Untersuchungen an Meerschweinchen über die Ursachen der geschlechtsunterschiedlichen Milchdrüsenentwicklung unter besonderer Berücksichtigung der Prolactinsekretion

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereiches Biologie FB 23
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Bernd Düsterberg aus Berlin
Berlin 1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546513_0097

Untersuchungen an Meerschweinchen über die Ursachen der geschlechtsunterschiedlichen Milchdrüsenentwicklung unter besonderer Berücksichtigung der Prolactinsekretion

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereiches Biologie FB 23
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Bernd Düsterberg aus Berlin
Berlin 1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Referent: Professor Dr. F. Neumann
2. Referent: Professor Dr. R. Keller

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
1.1.	Übersicht	1
1.2.1.	Die hormonelle Steuerung des Milchdrüsenaufbaus	1
1.2.2.	Die pränatale Differenzierung der Milchdrüse	2
1.2.3.	Die postnatale Milchdrüsenentwicklung	3
1.2.4.	Der Milchdrüsenaufbau während der Schwangerschaft	5
1.3.	Die Milchdrüsenstruktur im männlichen Organismus	6
1.4.	Der mammogene Hormonkomplex	6
1.5.	Prolactin	8
1.6.	Die Regulation der Prolactinsekretion	9
1.7.	Die Beeinflussung der PIF-Freisetzung durch Sexualhormone und exogene Reize	11
1.8.	Geschlechtsunterschiede hinsichtlich der Reaktion der Milchdrüse unter experimentellen Bedingungen	14
1.9.	Problemstellung der Experimente	17
II.	MATERIAL UND METHODEN	19
2.1.	Tiermaterial und Behandlung	19
2.2.	Einteilung der Gruppen	22
2.3.	Präparation der Milchdrüsen	24
2.3.1.	Milchdrüsenganzdarstellung ("whole mounts")	25
2.3.2.	Milchdrüsenhistologie	26

		Seite
2.3.3.	DNS-Bestimmung	26
2.3.4.	Saugwarzenwachstum	28
2.4.	Hypophysengewichte und -histologie	28
III.	ERGEBNISSE	30
3.1.	Milchdrüsenganzdarstellung ("whole mounts")	30
3.2.	Milchdrüsenhistologie	39
3.3.	DNS-Bestimmung	55
3.4.1.	Saugwarzenlängenmessung	71
3.4.2.	Saugwarzenhistologie	79
3.5.1.	Hypophysengewichte	86
3.5.2.	Hypophysenhistologie	91
IV.	DISKUSSION	98
4.1.	Begründung des Versuchsmodells	98
4.2.	Interpretation der Ergebnisse	103
V.	DANKSAGUNG	114
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	115
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	119
VIII.	LEBENSLAUF	

I. EINLEITUNG

1.1. ÜBERSICHT

Der Grad der Prolactinsekretion läßt sich unter experimentellen Bedingungen mangels einer direkten Bestimmungsmethode bei Meerschweinchen durch die Untersuchung des Bildungsorgans, der Hypophyse und eines der wichtigsten target-Organe, der Milchdrüse bestimmen. In den folgenden Kapiteln wird die Bedeutung des Prolactins innerhalb des mammogenen Hormonkomplexes erläutert.

1.2.1. DIE HORMONELLE STEUERUNG DES MILCHDRÜSENAUFBAUS

Die ältesten Beobachtungen an der Milchdrüse zeigten, daß deren Entwicklung in der Schwangerschaft erfolgte. Ovarektomie bewirkte eine Regression der Milchdrüse, sowohl während der Schwangerschaft als auch während der Laktationsphase. Ältere Arbeiten zeigten auch, daß Östrogene auf das Milchgangwachstum, Progesteron auf die lobulo-alveoläre Entwicklung stimulierend wirken. Östrogene und Progesteron haben eine synergistische Wirkungsweise.
(SMELSER 1933; REECE, TURNER und HILL 1936; REECE und LEONHARD 1939, 1941, 1942; REECE, BARTLETT und HATHAWAY 1940; REECE und RIVINS 1942; REECE und LEATHEM 1945; BENSON, COWIE, COX, FLUX und FOLLEY 1955; LYONS, LI und JOHNSON 1956, 1958; BENSON, COWIE, COX und GOLDZVEIG 1957; HÖHN 1957; BENSON, COWIE, FOLLEY und TINDAL 1959; TRAURIG und MORGAN 1964).

1.2.2. DIE PRÄNATALE DIFFERENZIERUNG DER MILCHDRÜSE

Durch die Vereinigung der Gameten wird das genetische Geschlecht festgelegt. Die Realisierung dieser Information beginnt mit der Differenzierung der Gonaden. Die Ausbildung des somatischen Geschlechts und anderer morphologischer Geschlechtsmerkmale, beispielsweise der Milchdrüsen, schließen sich an. Die Entwicklung der Milchdrüsenanlage scheint bei allen Placentariern gleich zu sein. Dorsal am Feten differenzieren sich ausgeprägte Zonen ektodermalen Ursprungs. Diese Epithelsprossen, eingesenkt in das Mesenchym, wurden auch als "mammary-line" oder "Milchleiste" bezeichnet (SCHULTZE 1892). Die Saugwarzen entwickeln sich entlang der "mammary-line", die Anzahl stimmt mit der der entstehenden Drüsenkörper überein. Die Warzen werden durch kreisförmige Epithelinvagination gebildet. Aus diesen Einsenkungen sprossen die Gangsysteme der Milchdrüsen (SCHMIDT 1897; RAYNAUD 1947; RAYNAUD und RAYNAUD 1953).

Die größte Bedeutung für die Entwicklung der Milchdrüsen vor der Geburt haben die Androgene. In einer bei den Spezies (Maus, Ratte) zeitlich verschiedenen sensitiven Phase der Embryonalentwicklung bewirken Androgene die Unterdrückung der Entwicklung der Milchdrüse. Diese Ausbildung einer rudimentären Milchdrüse ist bei normalen männlichen Tieren zu beobachten. Das Fehlen der vom embryonalen Organismus gebildeten Androgene, experimentell bei männlichen Feten durch intrauterine Kastration oder Antiandrogenbehandlung des Muttertieres herbeizuführen, leitet die Differenzierung zur weiblichen Mamma. Andererseits ist durch Androgenbehandlung von trächtigen Muttertieren während der für die Feten entscheidenden Entwicklungsphase bei weiblichen Embryonen die Entwicklung der Milchdrüsen

zum männlichen rudimentären Typ zu erreichen. (RAYNAUD 1942, 1947, 1949, 1950, 1953, 1956, 1962; RAYNAUD und FRILLEY 1947; ELGER und NEUMANN 1966; NEUMANN und ELGER 1966).

1.2.3. DIE POSTNATALE MILCHDRÜSENENTWICKLUNG

Vor der Pubertät zeigen die Milchdrüsen der meisten untersuchten Spezies verschieden stark ausgebildete Gangsysteme. Eine gewisse Alveolenbildung lassen Affen und Meerschweinchen erkennen. Bei den meisten Arten ist das Gangsystem spärlich entwickelt, Alveolen fehlen völlig (Katzen, Hunde, Kaninchen). Gangwachstum zeigen auch Rinder, Ziegen, Ratten und Mäuse.

Die Entwicklung der Milchdrüsen vor der Pubertät ist auf die vermehrte Bildung von Fettgewebe und die Einlagerung von Bindegewebe zurückzuführen. Trotzdem findet auch eine gewisse Entwicklung sekretorischen Gewebes statt, die mit der Körpergewichtszunahme linear verläuft (isometrisches Wachstum). Mit dem Beginn der Pubertät erfolgt eine rasche Proliferation des die Milchdrüse umgebenden Fettgewebes. Dieser bemerkenswerte Anstieg des Milchdrüsenwachstums ist etwa um den Faktor drei größer als die Zunahme des Körpergewichts (allometrisches Wachstum). Kastration vor der Pubertät verhindert diese Phase allometrischen Wachstums (COWIE 1949; FLUX 1954; FOLLEY 1956; SINHA und TUCKER 1966, 1969). Diese Kastrationsfolge weist auf die signifikante Rolle der Ovarien für den Milchdrüsenaufbau hin.

Die weitere Entwicklung der Milchdrüse während der Pubertät ist mit einer fortschreitenden Proliferation des Binde- und Fettgewebes korreliert. Die sekundären

und tertiären Epithelsprosse verzweigen sich, die Endstrukturen bilden Alveolen. Die ersten Zyklen können eine gewisse weitere Entwicklung bewirken (SINHA und TUCKER 1969). Bei Tieren mit langer Lutealphase kann während der normalen Zyklen eine lobuloalveoläre Entwicklung beobachtet werden (MARSHALL und HALMAN 1917). Das intensive Wachstum der Mamma während der Pubertät ist auf die einsetzende inkretorische Tätigkeit der Gonaden zurückzuführen. Zahlreiche Untersuchungen an hypophysektomierten, kastrierten weiblichen Ratten haben gezeigt, daß insgesamt mindestens fünf Hormone für ein normales Wachstum der Milchdrüse notwendig sind, nämlich Östrogene, Gestagene, Prolactin, Wachstumshormon und für die Laktation Glukokortikoide (STEINBECK 1969).

Östrogene und Progesteron wurden in vielen Arbeiten an der Ratte in verschiedenen Dosen, Kombinationen und Versuchszeiten auf Milchdrüsen-stimulierende Wirkung geprüft. Bei fertilen, ovarektomierten Ratten konnte die Milchdrüsenentwicklung durch tägliche Injektion von 1 µg Östradiol und 2 mg Progesteron bis zu einem Grad, der normalen weiblichen Tieren am 18 bis 20. Tag der Schwangerschaft entspricht, stimuliert werden. In Versuchen an Mäusen konnte die Kombination der beiden Hormone jedoch in keinem Verhältnis die Milchdrüse vergleichbar der Schwangerschaft stimulieren. Die meisten Ergebnisse zeigen aber, daß in erster Linie Östrogene und Progesteron für die Entwicklung der Drüsen im ovarektomierten Tier benötigt werden. (ANDERSON, BROOKRESON und TURNER 1961; LYONS und McGINTHY 1941; YAMAMOTU und TURNER 1956; BENSON, COWIE, COX und GOLDZVEIG 1957; SMITH und RICHTERICH 1958; GRIFFITH und TURNER 1959).

Auf der Basis von Östrogen- und Progesteroninjektionen kann man drei Kategorien von Spezies unterscheiden:

Erstens Tiere, die unter dem Einfluß physiologischer Dosen Östrogen (ohne Progesteron) Gangentwicklung aber keine nennenswerte Alveolenentwicklung zeigen (Maus, Ratte, Kaninchen und Katze).
Tiere der zweiten Gruppe zeigen auch bei ausschließlicher Östrogengabe Gangwachstum und die Entwicklung alveolärer Strukturen (Meerschweinchen).
Bei der Hündin und beim Frettchen ist mit Östrogenen ohne Progesteron weder eine nennenswerte Gangentwicklung, noch ein lobulo-alveolärer Aufbau zu erzielen. Progesteron allein konnte nur in hohen Dosen die Entwicklung alveolärer Strukturen induzieren.
(TURNER und GOMEZ 1934; FOLLEY 1952, 1955, 1956; BENSON, COWIE, COX, FLUX und FOLLEY 1955; BENSON und GOLDZVEIG 1957; SMITH und RICHTERICH 1958).

1.2.4. DER MILCHDRÜSENAUFBAU WÄHREND DER SCHWANGERSCHAFT

Die größte Ausdehnung sekretorischen Gewebes ist während der Schwangerschaft zu beobachten. Die Drüsengänge erreichen ihre größte Länge und Verzweigung. Alveolen liegen dichtgepackt an den Endstrukturen. Der höchste Grad der Proliferation wird meist im letzten Drittel der Schwangerschaft erreicht. Die Alveolen-bildenden Zellen differenzieren zu Lactose-, Casein- und Milchfett-produzierenden Drüsenzellen (WOODMAN und HAMMOND 1933; FOLLEY 1952; LINZELL 1959; MEYER und KLEIN 1960).

Bei vielen Arten stammen während der Schwangerschaft Östrogene und Gestagene nicht mehr allein aus dem Ovar, sondern auch aus der Plazenta. Die Frage, warum die Laktation erst nach der Geburt einsetzt, ist noch nicht völlig geklärt. Wahrscheinlich wirken die hohen Gestagen- und Östrogenspiegel während der Gravidität zusammen und

verhindern so eine Laktation. Mit der Geburt und dem Wegfall der Plazenta sinken die peripheren Östrogen- und Gestagenkonzentrationen, wodurch die Milchdrüse anscheinend sensibler gegenüber Prolactin wird. Prolactin induziert die Proliferation des Sekretionsgewebes und löst die Laktation aus.
(LYONS 1944, 1950, 1958; MIZUNO, IIDA und NAITO 1955)

1.3. DIE MILCHDRÜSENSTRUKTUR IM MÄNNLICHEN ORGANISMUS

Im Vergleich zur Entwicklung der weiblichen Milchdrüse bleibt das Organ beim männlichen Tier rudimentär. Das Gangsystem zeigt eine geringe Ausdehnung, Alveolen sind nur sehr selten zu finden, z.B. bei Affen und Meerschweinchen (TURNER und GOMEZ 1933; ABERLE 1934; TURNER und ALLEN 1934; WAGENEN 1938; GUTHKELCH und ZUCKERMANN 1939). Die Differenzierung der Milchdrüse zum weiblichen oder zum männlichen rudimentären Organ kann sich sowohl vor der Pubertät morphologisch manifestieren, z.B. bei der Maus (RAYNAUD 1953, 1956), als auch erst während der Pubertät, z.B. beim Meerschweinchen (SMELSER 1933; TURNER und GOMEZ 1933).

1.4. DER MAMMOGENE HORMONKOMPLEX

Experimente mit hypophysektomierten Tieren zeigten, daß Östrogene und Progesteron nur bei intakter Hypophyse eine Milchdrüsen-stimulierende Wirkung haben. Die Prolactinsekretion der Hypophyse wird durch Östrogene gefördert. Weiterhin sensitivieren Östrogene das Milchdrüsengewebe für Prolactin und stimulieren direkt das Wachstum der Milchdrüse (MEITES, MARTINI und GANONG 1966;

NORGREN 1968). Außerdem konnten mammogene Wirkungen der Kortikoide (LYONS 1958; COWIE und LYONS 1959), des Thyroxins (LYONS und CATCHPOLE 1933; MIXNER und TURNER 1942; SMITHCORS und LEONHARD 1942; PETERSON, KNODT und LUDWICK 1944; FLUX 1957; MOON 1962; BATES, MILLER und GARRISON 1962; KUMARESAN und TURNER 1965) und des Insulins festgestellt werden (AHREN und JACOBSOHN 1956; AHREN und ETIENNE 1958; AHREN 1959; KOZIOROWSKA 1962; KUMARESAN und TURNER 1965, 1967).

Die besondere Schwierigkeit liegt in der Trennung der allgemeinen Stoffwechselwirkungen dieser Hormone vom direkten morphogenetischen Einfluß auf die Milchdrüse.

Der mammogene Hormonkomplex besteht aus mindestens fünf Hormonen (STEINBECK 1969):

1. Progesteron
2. Östrogene
3. Prolactin
4. STH (somatotropes Hormon)
5. ACTH (adrenokortikotropes Hormon) bzw. Kortikoide

Prolactin ist der wichtigste Faktor für die lobulo-alveoläre Strukturierung der Mamma. Ohne Prolactin ist dieser Aufbau des sekretorischen Gewebes nicht zu erreichen (REECE und LEONHARD 1939, 1942; LYONS, SIMPSON und EVANS 1942; LYONS 1943, 1958; NELSON 1950, 1952; LYONS, LI und COLE 1953; LYONS, LI und JOHNSON 1956, 1958; FLUX 1958).
Weiterhin konnte die direkte lokale Wirkung nachgewiesen werden (LYONS, SIMPSON und EVANS 1941; GARDENER und WHITE 1941; LYONS 1942; MIZUNO, IIDA und NAITO 1955; FERGUSON 1956; LYONS, LI und JOHNSON 1956; MIZUNO und NAITO 1956; LYONS, JOHNSON und LI 1957).

1.5. PROLACTIN

Prolactin ist ein artspezifisches, wenig wasserlösliches Proteohormon (Molekulargewicht beim Schaf 23 300; isoelektrischer Punkt bei pH 5,6 - 5,7). (LI, LYONS und EVANS 1941; LI, SIMPSON und EVANS 1942; WHITE, BONSNES und LONG 1942; LI et al. 1954, 1957; LI, COLE und COVAL 1957; LI und CUMMINS 1958). Prolactin wird in den azidophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet und direkt an das Blut abgegeben. Ergebnisse der Immunhistochemie, Autoradiographie und Biochemie der Hypophysenvorderlappenhormone ermöglichten ihre Zuordnung zu bestimmten Zelltypen, die diese Inkrete produzieren (EMMART, SPICER und BATES 1963; EMMART, BATES und TURNER 1965; DOHM 1963; HERLENT 1964; PURVES 1966; HERLANT und PASTEELS 1967; KRACHT und HACHMEISTER 1969; PASTEELS 1971).

In der Gruppe der alpha- oder azidophilen Zellen kann bei Säugern durch geeignete Färbemethoden zwischen den Prolactin- und Somatotropin-produzierenden Zellen unterschieden werden (CLEVELAND und WOLFE 1932; HERLANT 1960; BROOKES 1968; ELTREBY und TÜSHAUS 1973).

Eine weitere Wirkung des Prolactins bezieht sich auf die Beeinflussung der Corpus-luteum Funktion bei einigen Spezies (ASTWOOD 1941; DESCLIN 1952; EVERETT 1956; LYONS, LI und JOHNSON 1958; WOLTHUIS 1963; MEITES und NICOLL 1966).

Die Bedeutung des Prolactins im männlichen Organismus ist ungeklärt. Die Hypophysen männlicher Ratten enthalten etwa die Hälfte der Prolactinmenge, die bei weiblichen Tieren gefunden wurde (MEITES und TURNER 1950; MEITES und NICOLL 1966; KURCZ 1967).

An männlichen Ratten getestete hohe Prolactindosen hatten Veränderungen der Prostata, der Samenblase und der Präputialdrüsen zur Folge. Unter physiologischen Bedingungen ist jedoch die Bedeutung von Prolactin für die Entwicklung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen männlicher Tiere zweifelhaft (RENNELS, ANIGSTEIN und ANIGSTEIN 1961; TULLNER 1963; GRAYHACK 1963; BENGMARK und HESSELSJO 1963, 1964).

1.6. DIE REGULATION DER PROLACTINSEKRETION

Die hypophysäre Prolactinproduktion und -freisetzung wird über die sogenannte Hypothalamus-Hypophysenachse gesteuert. Der Hypothalamus produziert neben Gonadotropin-Releasing-Factors eine die Prolactinfreisetzung hemmende Substanz, den Prolactin-Inhibiting-Factor (PIF). (McCANN und FRIEDMANN 1960; NICOLL und MEITES 1962; SAWYER, HAHN und HILLIARD 1963; WOLTHUIS 1963; MEITES 1963; KANEMATSU, HILLIARD und SAWYER 1963; KOBAYASHI, KIGOWA, MIZUNO und AMENOMORI 1963; BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; RAMIREZ und McCANN 1964; GROSVENOR, McCANN und NALLAR 1965; MISHKINSKY, LAJTOS und SULMAN 1966; ROBBOY und KAHN 1966; DeVOE, RAMIREZ und McCANN 1966; KUROSHIMA, ARIMURA, BOWERS und SCHALLY 1966; CHOWERS und McCANN 1967; SAR und MEITES 1967; GROSVENOR, MENA, DHARIWAL und McCANN 1967; ARIMURA, SAITO, MÜLLER, BOWERS, SAWANO und SCHALLY 1967; DHARIWAL, GROSVENOR, RODRIGUEZ und McCANN 1968; McCANN und PORETER 1969).

Untersuchungen an Ratten zeigten, daß die periphere Prolactinmenge offenbar einen hemmenden Einfluß auf die hypophysäre Prolactinproduktion hat. Ein hoher Plasmaprolactinspiegel wirkt negativ auf den Prolactingehalt der Hypophyse und die Prolactinsekretion (CHEN, MINAGUCHI

und MEITES 1967; SINHA und TUCKER 1968; CLEMENS und MEITES 1968).

Die Existenz des PIF wurde mit verschiedenen Methoden nachgewiesen. Hypophysenautotransplantationen bei hypophysektomierten, mit Östrogenen vorbehandelten Ratten führen infolge der fehlenden Kontrolle durch den Hypothalamus zu einem tumorartigen Wachstum der Hypophysen. Die transplantierten Hypophysen sezernieren exzessive Mengen Prolactin. Reimplantation in den Hypothalamus reduziert diese Sekretionsrate (NIKITOVITCH-WINER 1965; NIKITOVITCH-WINER und EVERETT 1958). Läsionen in bestimmten Hypothalamusgebieten erhöhen die Prolactinsekretion (CHEN, AMENOMORI, LU, VOOGT und MEITES 1970; COOK 1959; FLERKO 1966).
Den Hinweis auf die Existenz eines die Prolactin-Freisetzung hemmenden Faktors erbrachten auch Experimente in vitro: Hypophysenzellkulturen sezernieren erhebliche Mengen Prolactin (NICOLL und MEITES 1962). Zugabe eines Extraktes aus der Eminentia mediana des Hypothalamus setzt die Prolactinfreisetzungsrate herab, anscheinend ohne das Hypophysengewebe zu schädigen (DONOVAN 1973).

Eine Rückkopplungshemmung von peripherem Prolactin auf die hypophysäre Prolactinsekretion konnte experimentell bei der Ratte nachgewiesen werden. Diese Hemmung beruht offenbar auf einer vermehrten PIF-Produktion des Hypothalamus. Die Implantation von Prolactin in den Hypothalamus erhöht die PIF-Konzentration, verringert die Prolactinkonzentration in der Hypophyse und verkürzt die Dauer der Lutealfunktion bei der Ratte (CHEN, VOOGT und MEITES 1968).

Die Injektion eines Extraktes aus Hypothalamusgewebe des Schweines induzierte bei männlichen Ratten eine

signifikante Erhöhung des Plasma-Prolactinspiegels. (VALVERDE, CHIEFFO und REICHLIN 1972).
Ob es sich tatsächlich um die Wirkung einer Substanz handelt, die man als "Prolactin-Releasing-Factor" bezeichnen kann, ist zweifelhaft.

1.7. DIE BEEINFLUSSUNG DER PIF-FREISETZUNG DURCH SEXUALHORMONE UND EXOGENE REIZE

Untersuchungen an der Ratte zeigten, daß Östrogene offenbar die Prolactinsekretionsrate der Hypophyse erhöhen, indem sie auf die PIF-Ausschüttung des Hypothalamus Einfluß nehmen (MEITES und TURNER 1942; EVERETT 1956, 1964; WOLTHUIS und DeJONGH 1963; RATNER, TALWALKER und MEITES 1963; WOLTHUIS 1963; BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; RATNER und MEITES 1964; TALWALKER, MEITES und MIZUNO 1964; RAMIREZ und McCANN 1964; NICOLL und MEITES 1962, 1964; MEITES und NICOLL 1966; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967; CHOWERS und McCANN 1967; SAR und MEITES 1967; MINAGUCHI, CLEMENS und MEITES 1968).

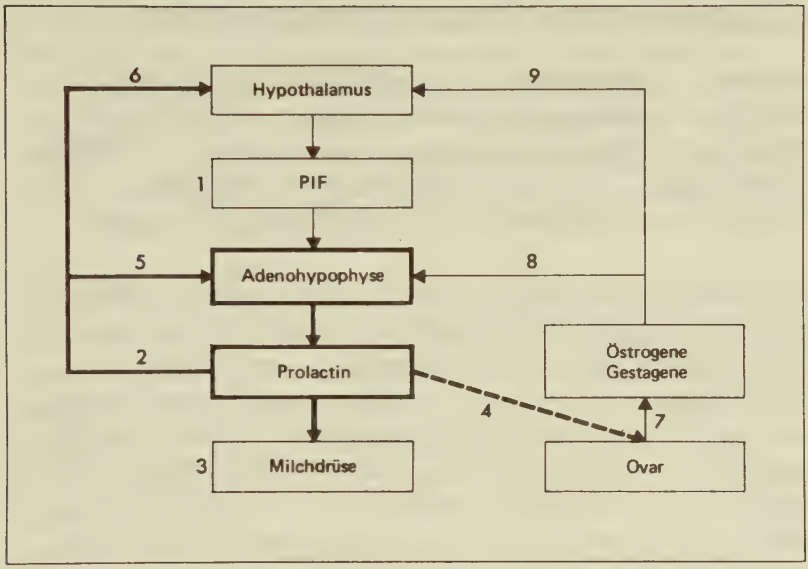
Die direkte Stimulierung des Pars distalis durch Östrogene kann jedoch nicht ausgeschlossen werden (DESCLIN und GREGOIRE 1936; DESCLIN 1956; DESCLIN und KONLISCHER 1960; NICOLL und MEITES 1962; KANEMATSU und SAWYER 1963). Der Prolactingehalt der Hypophysen kann bei Ratten durch Östrogeninjektionen erheblich erhöht werden (REECE 1938; MEITES 1959).

Östrogene hemmen offenbar die PIF-Freisetzung im Hypothalamus und erhöhen dadurch indirekt die Prolactinsekretionsrate der Hypophyse. Progesteron, Kortikoide und Testosteron (nur bei weiblichen Tieren) stehen offensichtlich wie Östrogene über die Verminderung des PIF

im Hypothalamus mit der Prolactinsekretion in einer positiven feed-back Beziehung. Die Verabreichung dieser Hormone hatte eine erhöhte Prolactinsekretionsrate der Hypophyse zur Folge (ROTHCHILD und DICKEY 1960; WOLTHUIS und DeJONGH 1963; ROTHCHILD 1965; SAR und MEITES 1968; BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; SULMAN, BENDAVID, DANON, DIKSTEIN, KHAZAN und MISHKINSKY 1963, 1964; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967; FOLLEY 1952; AHREN und ETIENNE 1959; KAHN und BAKER 1966; CHOWERS und McCANN 1967).

Cytologische Veränderungen der Hypophyse unter Östrogeneinfluß lassen sich durch geeignete histologische Methoden beweisen. Eine deutliche Vermehrung der laktotropen Zellen, die Prolactin produzieren, ist in der Adenohypophyse festzustellen (DESCLIN und GREGOIRE 1936; DESCLIN 1940).

Zu den exogenen Reizen, die die Milchdrüsenentwicklung beeinflussen, zählen nervöse Reize, die während des Säugens von der Mamma ausgehen, sowie die Cervix-Stimulierung (CON und COWIE 1961; ROTHCHILD 1960; RATNER und MEITES 1964; HERLYN, GELLER und v.BERSWORDT-WALLRABE 1965; ZEILMAKER 1965; EVERETT 1966; KUROSHIMA, ARIMURA, BOWERS und SCHALLY 1966; MENA und SCHAEFGEN 1967; MINAGUCHI und MEITES 1967; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967; STEINBECK 1969).



Zusammenfassende Übersicht

1. In der Eminentia mediana des Hypothalamus wird der Prolactin–Inhibiting–Factor (PIF) gebildet.

2. Der Hypophysenvorderlappen sezerniert in Abhängigkeit von der PIF–Konzentration Prolactin.

3. Das sekretorische Gewebe der Milchdrüse entwickelt sich unter Prolactineinwirkung vollständig.

4. Das Ovar kann zu vermehrter Progesteronproduktion angeregt werden (Ratte).

5. Rückkopplungshemmung von peripherem Prolactin auf die hypophysäre Prolactinproduktion?

6. Positiver feed–back zwischen Prolactin und der PIF–Produktion im Hypothalamus?

7. Das Ovar produziert Östrogene und Gestagene.

8. Direkte Wirkung von Östrogenen auf die Hypohyse.

9. Östrogene hemmen die PIF–Ausschüttung, vergrößern die Prolactinfreisetzugsrate.

ABB. 1

1.8. GESCHLECHTSUNTERSCHIEDE HINSICHTLICH DER REAKTION DER MILCHDRÜSE UNTER EXPERIMENTELLEN BEDINGUNGEN

Die normale Morphogenese der männlichen Milchdrüse erreicht bei allen untersuchten Spezies nicht die für die weibliche Mamma charakteristische Struktur (TURNER und GOMEZ 1933, 1934, 1936; TURNER und MOSS 1934; RICHARDSON und CLOUDMAN 1947; RICHARDSON 1951, 1953).

Erste Versuche mit kastrierten Tieren ergaben keinen Unterschied im qualitativen Aufbau der Milchdrüse: Nach der Transplantation von Ovarien, der Injektion von Ovarextrakten, der Verabreichung von reinen Östrogenen, z.T. kombiniert mit Progesteron (STEINACH 1912, 1916; SAND 1919; ATHIAS 1915; MOORE 1921; GARDENER 1935; NELSON 1936; HALBAN 1900; KNAUER 1900; LANE-CLAYPON und STARLING 1906; SMELSER 1933; LOEB und HESSELBERG 1917; HAMMOND 1951).
Die adäquate Behandlung männlicher Tiere (z.B. Meerschweinchen) führte bis zur Laktation (SMELSER 1933; LYONS und PENCHARZ 1936; NELSON 1937).
Quantitative Untersuchungen an Maus, Ratte, Kaninchen und Ziege ergaben jedoch, daß der Aufbau der männlichen Drüse auch unter experimentellen Bedingungen nicht den gleichen Grad des Drüsenaufbaus weiblicher Vergleichstiere erreicht (ASTWOOD, GESCHICKTER und RAUSCH 1937; ASTWOOD und GESCHICKTER 1938; FOLLEY, GUTHKELCH und BOTTOMLEY 1941; LEWIS und TURNER 1942; TURNER und GOMEZ 1934; YAMAMOTU und TURNER 1956; SMITH und RICHTERICH 1958; ANDERSON, BROOKRESON und TURNER 1961).

Bei Meerschweinchen wurden in älteren Arbeiten, die auf qualitativen Methoden basieren, keine Geschlechtsunterschiede hinsichtlich des Milchdrüsenaufbaus unter dem Einfluß weiblicher Sexualhormone gefunden (SMELSER

1933). Die einzige quantitative Untersuchung, die über dieses Problem Aussagen macht, beschränkt sich auf die Feststellung, daß normale männliche Meerschweinchen bei niedrigen Östrogendosen nicht so empfindlich in bezug auf das Milchdrüsenwachstum reagieren, wie die weiblichen Tiere (SMITH und RICHTERICH 1958). Diese Reaktion wurde mit der Anwesenheit endogener, antagonistisch wirkender Androgene begründet (JACOBSOHN 1962; JACOBSOHN und NORGREN 1965).

Da die Milchdrüse beim Meerschweinchen bis zur Pubertät bei den Geschlechtern keine morphologischen Unterschiede zeigt, ist bei entsprechender Stimulierung mit mammotropen Hormonen eine völlig gleichartige Entwicklung sowohl beim kastrierten männlichen als auch beim ovarektomierten Tier zu erwarten (SMELSER 1933; TURNER und GOMEZ 1933).
Wie quantitative Untersuchungen an anderen Spezies zeigten, entwickelt sich aber die weibliche Milchdrüse stärker als die männliche.

Die Milchdrüsenanlagen könnten sich bei weiblichen und männlichen Tieren unterschiedlich entwickeln. Quantitative Unterschiede im Milchdrüsenaufbau müßten sich demnach schon vor der Pubertät bzw. vor der Behandlung präpuberal kastrierter Tiere zeigen. Bei Ratten lassen sich jedoch bis zur Pubertät keine quantitativen Differenzen im Grad der Milchdrüsenentwicklung bei den Geschlechtern feststellen (RIESER, SCHULZ und NEUMANN 1970).

Da innerhalb des mammogenen Hormonkomplexes Prolactin der wichtigste Faktor ist, der direkt den Aufbau der Mamma induziert, ist eine bei den Geschlechtern unterschiedliche Prolactinsekretionsrate wahrscheinlich.

Östrogene und Progesteron wurden männlichen kastrierten und weiblichen ovarektomierten Tieren in gleichen Dosen verabreicht. Somatotropes Hormon kann die Milchdrüsenentwicklung nur in Zusammenhang mit einem anderen Co-Mammogen stimulieren (COWIE 1957; BENSON und FOLLEY 1957; LYONS, LI und JOHNSON 1958; HADFIELD und YOUNG 1958; MEITES 1965; KUMARESAN und TURNER 1965). Unter den Bedingungen dieser Versuche ist eine erhöhte STH-Sekretion nicht wahrscheinlich. Durch ACTH oder Glukokortikoide verursachte geschlechtsunterschiedliche Reaktionen der Mamma auf eine Östrogen-Progesteron-Behandlung sind auszuschließen. Kortikoide stimulieren hauptsächlich die aktive Milchdrüse, beeinflussen jedoch nicht das Wachstum. Außerdem besteht zwischen Prolactin und Glukokortikoiden eine positive feed-back Beziehung (AHREN und JACOBSOHN 1957; JOHNSON und MEITES 1958; LYONS, LI und JOHNSON 1958; GRIFFITH und TURNER 1963; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967).

Da Östrogene nicht direkt, sondern offenbar hauptsächlich über eine Verminderung des PIF im Hypothalamus die hypophysäre Prolactinsekretion stimulieren, ist die angenommene Wechselwirkung zwischen den verabreichten Hormonen und dem PIF von entscheidender Bedeutung (EVERETT 1956; KANEMATSU und SAWYER 1963; BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; NICOLL und MEITES 1964; RAMIREZ und McCANN 1964; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967; SAR und MEITES 1967; NICOLL 1966). Die Hemmung der PIF-Produktion könnte bei den Geschlechtern unterschiedlich groß sein. Bei weiblichen Tieren reagiert das PIF-produzierende hypothalamische Zentrum möglicherweise auf die Einwirkung von Östrogenen empfindlicher als bei männlichen. Die Konzentrationsverminderung des PIF könnte also bei männlichen Tieren unter identischen Versuchsbedingungen geringer sein als bei weiblichen. Die Folge wäre, daß die Hypophysen weiblicher Tiere mehr Prolactin freisetzen als die der

männlichen (NEUMANN, ELGER und STEINBECK 1971). Versuche an Ratten legten den Schluß nahe, daß die Empfindlichkeit der PIF-bildenden hypothalamischen Zentren gegenüber Östrogenen während der Fetalentwicklung durch Androgene herabgesetzt wird. Wird die Androgenproduktion männlicher Feten ausgeschaltet, so zeigen diese Tiere nach einer späteren Östrogenbehandlung eine Milchdrüsenentwicklung, die quantitativ der weiblicher Tiere entspricht. Andererseits setzt eine Androgenbehandlung weiblicher Feten die Empfindlichkeit der hypothalamischen Zentren offenbar herab. Der Grad des Milchdrüsenaufbaus dieser virilisierten weiblichen Tiere nach einer Östrogenbehandlung ist vergleichbar dem kastrierter, in gleicher Weise mit Östrogenen behandelter männlicher Tiere (KUMARESAN und TURNER 1966; NEUMANN und ELGER 1967; KURCZ et al. 1967; v. HASSELBACH 1970).

1.9. PROBLEMSTELLUNG DER EXPERIMENTE

An Meerschweinchen soll untersucht werden, ob sich die Milchdrüsenanlagen präpuberal-gonadektomierter Tiere beiderlei Geschlechts unterscheiden. Lassen sich keine Unterschiede feststellen und sollte dennoch nach der Behandlung mit Östron und Progesteron eine sexualspezifische Milchdrüsenentwicklung zu beobachten sein, ist der Grund offensichtlich in einer bei den Geschlechtern differierenden Prolactinsekretion zu suchen.
Das histologische Bild der Hypophysen könnte bei einer unterschiedlichen Prolactinsekretionsrate eine Differenzierung zeigen.

Ferner soll untersucht werden, ob die angenommene embryonale Differenzierung der hypothalamischen Zentren,

die die Prolactinsekretion regulieren, durch Androgene oder Antiandrogene beeinflußt werden kann.

Die Untersuchungen an Meerschweinchen sollen vor allem klären, inwieweit die an Ratten erhobenen Befunde auf eine andere Spezies übertragbar sind und ob es sich um ein allgemeines Prinzip in der Säugetierreihe handelt.

II. MATERIAL und METHODEN

2.1. TIERMATERIAL UND BEHANDLUNG

Die Untersuchungen wurden an männlichen und weiblichen Meerschweinchen durchgeführt. Die Tiere wurden bei einem Gewicht von 200 bis 250 g, das entspricht einem Alter von 2 bis 3 Wochen, gonadektomiert. Die Operation wurde unter Äthernarkose bei möglichst sterilen Bedingungen ausgeführt. Es wurden die Ovarien und Ovidukte bzw. die Hoden und Nebenhoden entfernt. Der Zeitpunkt der Operation lag somit vor dem Beginn der Pubertät, die bei Meerschweinchen etwa 30 Tage nach der Geburt einsetzt.

Versuchsserie I: Geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsenentwicklung nach der Stimulierung mit Östron und Progesteron*

Um die Entwicklung der Milchdrüsen im gonadektomierten Meerschweinchen zu stimulieren, wurden Östron, Progesteron und die Kombination beider verabreicht. Mit der Hormon-Behandlung wurde 3 Wochen nach der Gonadektomie begonnen. Die Hormon-Injektionen erfolgten täglich in das subcutane Gewebe des Rückens. Die Steroide wurden in Rizinusöl gelöst injiziert.

Weibliche und männliche Kontrollgruppen wurden nicht behandelt. Weitere weibliche und männliche Kontrollgruppen wurden weder gonadektomiert, noch behandelt.
Die applizierten Dosen sind aus der Abbildung 2 ersichtlich.

---

* Die Ergebnisse der ersten Versuchsserie wurden bereits als Diplomarbeit im Fachbereich Biologie der Freien-Universität-Berlin zusammengefaßt.

Versuchsserie II: Abhängigkeit der geschlechtsunterschiedlichen Milchdrüsenentwicklung von der Sexualhormondosis

Der Grad der geschlechtsunterschiedlichen Milchdrüsenentwicklung wurde an gonadektomierten Meerschweinchen nach der Applikation verschiedener Dosen Östron (teilweise kombiniert mit einer konstanten Dosis Progesteron) untersucht. Die Dosen sind aus Abbildung 3 ersichtlich.

Versuchsserie III: Die Bedeutung fetaler Androgene für die geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsenentwicklung

In Versuchsserie III wurden 500 bis 600 g schwere trächtige Meerschweinchen vom 25. bis 40. Tag der Gravidität mit Cyproteronacetat (1,2αMethylen-6-Chloro-$\Delta^{4,6}$-Pregnadien-17α-ol-3,20-Dion-17α-Acetat) behandelt. Die Substanz wurde in Rizinusöl gelöst täglich jeweils abwechselnd in die Muskulatur der hinteren Extremitäten injiziert (Dosen s. Abbildung 4). Weiteren männlichen und weiblichen Gruppen wurde in derselben Versuchsanordnung das Androgen Methyltestosteron injiziert. Ferner wurde eine Kontrollgruppe gravider Meerschweinchen nur mit dem Lösungsmittel Rizinusöl behandelt.

Der erste Tag der Gravidität wurde durch Nachweis von Spermien im Vaginalsekret ermittelt. Der Behandlungszeitraum lag in der embryonalen Phase der Hypothalamus-Differenzierung.

In Vorversuchen zeigte sich, daß die normale Tragzeit von ca. 65 Tagen nach der Behandlung mit Cyproteronacetat und Methyltestosteron weit überschritten wurde. Die Jungtiere waren dann nach der Geburt nicht lebensfähig. In einer zweiten Versuchsserie wurde deshalb die

Geburt nach 65 Tagen mit Oxytocin (Orasthin, Hoechst), Dosis: zweimal 0.5 I.U. subcutan, eingeleitet.

Die Jungtiere wurden nach der Geburt normal von den Muttertieren aufgezogen. Die Laktation war nicht beeinträchtigt. Zwei Wochen nach der Geburt wurden die Jungtiere gonadektomiert. Nach einer weiteren Woche begann die Behandlung mit einer Kombination von 10 µg Östron und 1 mg Progesteron täglich subcutan 40 Tage. Am Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere mit Äther getötet und seziert.

2.2. EINTEILUNG DER GRUPPEN

Gruppeneinteilung I. Versuchsserie

Gruppe	Geschlecht	Zahl	Gonadekt.	Behandlung	Zeit (d)
1	♀	10			40
2	♂	10			40
3	♀	10	x		40
4	♂	10	x		40
5	♀	10	x	1 mg P	68
6	♂	10	x	1 mg P	68
7	♀	10	x	30 µg Ö	40
8	♂	10	x	30 µg Ö	40
9	♀	10	x	17 µg Ö + 0,5 mg P	40
10	♂	10	x	17 µg Ö + 0,5 mg P	40

Ö = Östron
P = Progesteron

Abbildung 2

Gruppeneinteilung II. Versuchsserie

14 Gruppen von jeweils 5 gonadektomierten weiblichen und 14 Gruppen von jeweils 5 gonadektomierten männlichen Tieren wurden 40 Tage täglich subcutan folgende Dosen Östron bzw. Östron kombiniert mit Progesteron injiziert:

0,1 µg Östron	0,1 µg Östron + 1 mg Progesteron
1,0 µg Östron	1,0 µg Östron + 1 mg Progesteron
2,5 µg Östron	2,5 µg Östron + 1 mg Progesteron
5,0 µg Östron	5,0 µg Östron + 1 mg Progesteron
7,5 µg Östron	7,5 µg Östron + 1 mg Progesteron
10,0 µg Östron	10,0 µg Östron + 1 mg Progesteron
15,0 µg Östron	15,0 µg Östron + 1 mg Progesteron

Gruppeneinteilung III. Versuchsserie

Behandlung gravider Meerschweinchen:

Gruppe	Anzahl der Tiere	Behandlungszeitraum während der Gravidität	Dosis pro Tag und kg Körpergewicht intramuskulär
1	10	25-40. Tag	50 mg Cyproteron-acetat
2	10	25-40. Tag	5 mg Methyltesto-steron
3	5	25-40. Tag	Lösungsmittel

Behandlung der feminisierten bzw. virilisierten Jungtiere:

Gruppe	Geschlecht	Gonad-ektomie	Behandlung prä-natal	Behandlung post-natal	Zahl der Tiere	Behandlungs-dauer (d)
1	♀	x			5	
2	♂	x			5	
3	♀	x	L	Ö+P	5	40
4	♂	x	L	Ö+P	5	40
5	♀	x	C	Ö+P	6	40
6	♂	x	C	Ö+P	8	40
7	♀	x	M	Ö+P	7	40
8	♂	x	M	Ö+P	10	40

C = Cyproteronacetat
L = Lösungsmittel
M = Methyltestosteron
Ö+P = 10 µg Östron + 1 mg Progesteron s.c./pro die

Abbildung 4

2.3. PRÄPARATION DER MILCHDRÜSEN

Am Tage nach der letzten Injektion wurden alle Tiere mit Äther getötet und die Milchdrüsen sofort präpariert. Der Entwicklungsgrad der Drüsen wurde mit folgenden qualitativen und quantitativen Methoden bestimmt:

1. Milchdrüsenganzdarstellung ("whole mount preparation")
2. Milchdrüsenhistologie
3. DNS-Bestimmung
4. Saugwarzenlängenmessung und -histologie

Schema eines Meerschweinchens von ventral, in das die Drüsenbezirke eingezeichnet sind (TINDAL und YOKOHAMA 1962):

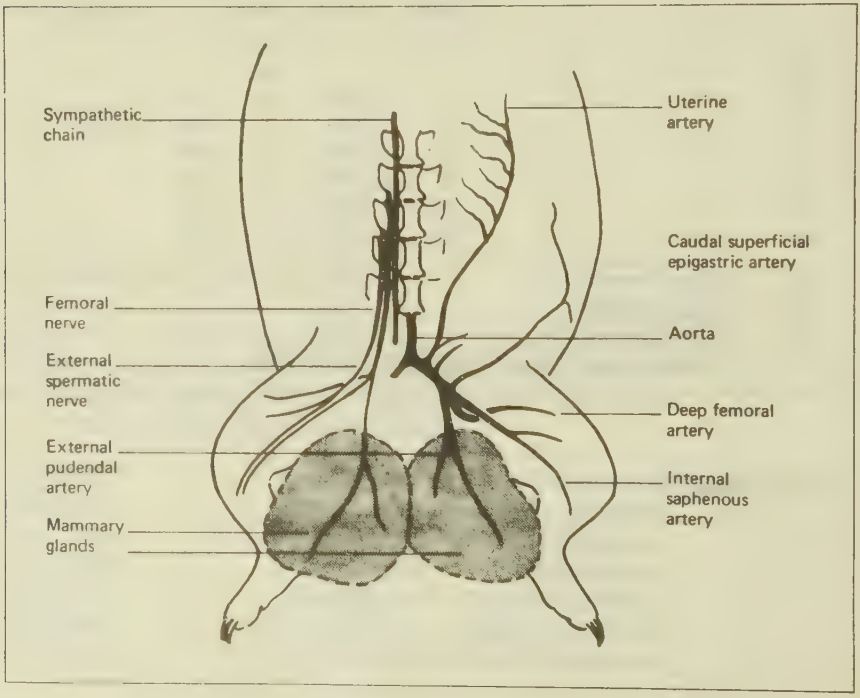


Abbildung 5

2.3.1. MILCHDRÜSENGANZDARSTELLUNG ("whole mounts")

Die "whole mount preparation" (HADFIELD und YOUNG 1950; LYONS und JOHNSON 1952) ermöglicht eine Gesamtbetrachtung der Milchdrüsenstruktur. Der lobulo-alveoläre Aufbau kann mit dem Stereomikroskop betrachtet und beurteilt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde u.a. versucht, diese nur für Spezies mit flachen Milchdrüsen geeignete Methode auch bei Meerschweinchen, die einen dreidimensionalen Aufbau der Milchdrüsen zeigen, anzuwenden. Der Unterschied in der Präparation im Vergleich zur Ratte oder Maus liegt im Entfernen des Fettgewebes, das die Drüsen umgibt. Dieses Gewebe ist bei Meerschweinchen so stark entwickelt, daß eine vergleichende Betrachtung des Entwicklungsgrades der Drüsen ohne präparative Entfernung nicht möglich ist.

Technik:
Die Haut des Drüsenbezirks wird mit dem darunterliegenden Fettgewebe vom Tierkörper abgetrennt und jeweils nach der Größe der Drüsen 24 bis 48 Stunden in Boin'schem Gemisch fixiert. Nach mehrtägiger Spülung in 50 %igem Äthanol werden die Drüsen von der Haut abgetrennt und mit Alaun-Karmesin gefärbt. Mit 70 %igem Alkohol wird differenziert, in aufsteigender Alkoholreihe dehydriert. Die Drüsen werden schließlich zur Aufhellung mehrere Tage in Xylol gelegt.

Nach dieser Behandlung wird der Drüsenkörper aus dem umgebenden Fettgewebe unter dem Stereomikroskop freipräpariert. Es folgt die Einbettung in Eukitt. Die gesamte Drüse wird photographiert, einzelne Ausschnitte zur besseren Beurteilung der Feinstruktur in einer stärkeren Vergrößerung.

2.3.2. MILCHDRÜSENHISTOLOGIE

Der Drüsenkörper wird in Bouin'schem Gemisch fixiert. Nach einer Spülung in Äthanol folgt die Färbung mit Hämatoxilin-Eosin. Schließlich wird das Präparat in Paraffin (56° C) eingebettet, und Serienschnitte werden für die mikroskopische Untersuchung angefertigt.

2.3.3. DNS-BESTIMMUNG

Die qualitative Methode der "whole mount preparation" wird durch die quantitative Methode der DNS-Bestimmung ergänzt. Nach KIRKHAM und TURNER 1953; MIRSKY und RIS 1949 ist der DNS-Gehalt eines bestimmten Organs seiner Zellzahl direkt proportional. HARKNESS und HARKNESS 1956 zeigten, daß sich der Kollagengehalt einer im Aufbau befindlichen Mamma wenig ändert. Der Fehler, der sich aus einem Unterschied in der Menge des Bindegewebes mehrerer zu vergleichender Milchdrüsen ergibt, ist also auf Grund seiner gleichen Verteilung zu vernachlässigen. Die Veränderung des DNS-Gehaltes der Drüsen ist somit dem Grad des Aufbaus der Drüsengänge und Alveolen direkt proportional. Die Parenchymproliferation ist dabei von vorrangiger Bedeutung, da aus dem DNS-Gehalt der Drüsen nicht zwischen dem Aufbau der Drüsengänge und der Alveolen unterschieden werden kann.

Technik:
(GRIFFITH und TURNER 1961; MOON, GRIFFITH und TURNER 1959; WEBB und LEVY 1954; SCHNEIDER 1945)
Die Milchdrüsen werden gewogen und sofort nach der Abtrennung vom Tierkörper tiefgefroren. Durch Kochen in organischen Lösungsmitteln (abs. Alkohol, Äther, Benzol) wird das Fett extrahiert. Im darauffolgenden Arbeitsgang wird die in den verbleibenden Trockenmaterial enthaltende DNS bestimmt. Die Messung erfolgt für jede Drüse einzeln.

DNS-Bestimmung:

a) Hydrolyse

1. Das zu untersuchende trockene, fettfreie und homogenisierte Material wird in 3 ml 5 %iger Trichloressigsäure (TCA) suspendiert.
2. Die Suspension wird 30 Minuten im kochenden Wasserbad hydrolisiert.
3. Kühlung der Gläser.
4. Zu dem Ausgangsvolumen von 3 ml werden zusätzlich 3 ml TCA gegeben.
5. Der Inhalt wird gemischt und zentrifugiert.

b) Herstellung der DNS-Standardlösung

25 mg DNS werden in 20 ml 5 %iger TCA gelöst und 30 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach der Hydrolyse und Abkühlung wird das Volumen mit 5 %iger TCA auf 25 ml gebracht. Verschiedene Konzentrationen werden durch Verdünnung der Stammlösung mit 5 %iger TCA hergestellt. Die kolorimetrische Bestimmung ist identisch mit der Bestimmung bei unbekannten Trockensubstanzen.

c) Kolorimetrische Bestimmung

1. 2 ml des hydrolisierten Materials werden in Zentrifugengläser pipettiert.
2. Dazu kommen in jede Probe 2 ml TCA und anschließend 0.2 ml p-Nitrophenylhydrazin.
   (Herstellung der 0.5 %igen p-Nitrophenylhydrazinlösung: 50 mg ad 10 ml abs. Alkohol)
3. Ein Reagenzienleerwert wird hergestellt, indem 4 ml 5 %ige TCA verwendet werden und 0.2 ml p-Nitrophenylhydrazin.
4. Alle Proben werden 20 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt.
5. Nach Abkühlung werden 10 ml n-Butylacetat zu jeder Probe gegeben.
6. Die Zentrifugengläser werden 15 Minuten geschüttelt.
7. Zur besseren Trennung der organischen von der wässrigen Phase werden die Proben zentrifugiert.
8. Die größere organische Phase wird verworfen.
9. 3 ml der wässrigen Phase werden zur Messung in Reagenzgläser überführt.
10. Kurz vor der Messung wird 1 ml 2n NaOH pro Probe zur Entwicklung der Farbe dazugegeben.
11. Die gefärbte Lösung wird im Eppendorfphotometer bei 546 nm gemessen.

2.3.4. SAUGWARZENWACHSTUM

Die Längenmessung der Saugwarzen ist als Parameter für die Wirkung von Östrogenen bei Schafen, Ziegen und Meerschweinchen benutzt worden (SMELSER 1933; FOLLEY, SCOTT-WATSON und BOTTOMLEY 1940; MUNFORD 1964).
Bei der Ratte sind Saugwarzen nur beim weiblichen Tier vorhanden. Beim Meerschweinchen sind jedoch bei beiden Geschlechtern deutlich erkennbare Nippel vorhanden, so daß eine vergleichende Untersuchung möglich ist. (LAQUEUR, BORCHARDT, DINGEMANSE und DeJONGH 1928; LYONS und PENCHARZ 1936; DODDS, LAWSON, NOBLE und TORONTO 1938)

2.4. HYPOPHYSENGEWICHTE und -HISTOLOGIE

Um die Veränderung des Erfolgsorgans nach der Stimulierung mit Östron und Progesteron zu erfassen, wurden die Gewichte der Hypophysen bestimmt.
Die Gewichtsunterschiede der einzelnen Gruppen ließen eine histologische Auswertung hinsichtlich der Veränderung der cytologischen Struktur sinnvoll erscheinen.

Technik der Histologie:
(Methode nach ETREBY und TÜSHAUS 1972)

Die angewandte Differenzialfärbung für Wachstumshormon- und Prolactinproduzierende Zellen erlaubt eine qualitative und semiquantitative Aussage über den Hormongehalt und den Funktionszustand dieser Zellen.

Nach der Fixierung werden die Hypophysen in Paraffin eingebettet und Serienschnitte angefertigt.

Für die Färbung benötigte Lösungen:

A) 1 % Carmoisin L in 1 %iger Essigsäure
B) 2 % Phosphorige Säure in 95 %igem Alkohol
C) 0.5 % wool green S in 0.5 %iger Essigsäure

Färbung:

1. Entparaffinieren, wässern über Jod, entsublimieren und waschen in Leitungswasser.
2. 1 1/2 Stunden ätzen in 10 %iger wässriger Kupfersulfatlösung.
3. 20 Minuten in fließendem Leitungswasser waschen und in destilliertem Wasser spülen.
4. 30 Minuten in Lösung A färben.
5. Spülen in destilliertem Wasser, danach in 95 %igem Alkohol.
6. 5 bis 30 Minuten in Lösung C färben, nach Spülen in Lösung B unter dem Mikroskop kontrollieren, ob das Orange G alles Carmoisin L von den somatotropen Zellen verdrängt hat.
7. Spülen in destilliertem Wasser.
8. 5 Minuten Rückfärbung in Lösung A.
9. Spülen in destilliertem Wasser.
10. 10 Minuten in Lösung C färben.
11. Spülen in destilliertem Wasser.
12. Mit 1 %iger Essigsäure 2 Minuten überschüssiges wool green S entfernen.
13. Dreimal in absolutem Alkohol spülen, in Xylol aufhellen und in Eukitt eindecken.

lactotrope Zellen	:	rot
somatotrope Zellen	:	orange
basophile Zellen	:	blau-grün
Erythrozyten	:	rot
Kerne	:	schwarz

III. ERGEBNISSE

3.1. MILCHDRÜSENGANZDARSTELLUNG I. VERSUCHSSERIE

("whole mounts")

Die normal entwickelte Milchdrüse des nichtgraviden Meerschweinchens zeigt ein gut ausgebildetes Gangsystem mit wenigen Alveolen. Ein Drüsengang durchzieht die Saugwarze, teilt sich und verzweigt sich zu den Ducti lactiferi. Die Struktur der Drüse ist aufgelockert, Gänge und Alveolen sind gut zu erkennen (Abbildungen 6 und 7).

Abbildung 9 zeigt den Entwicklungsgrad der normalen männlichen Milchdrüse ca. 3 Monate nach der Geburt (Alter der Tiere der Gruppen 1 bis 4 und 7 bis 10). Nur gelegentlich sind am Gangsystem Knospen-ähnliche Strukturen zu erkennen, Alveolen fehlen völlig.
Im Vergleich zu anderen Spezies - beispielsweise der Maus (RICHARDSON 1951, 1953) - ist das Gangsystem bei normalen männlichen Meerschweinchen recht gut entwickelt. Die Gänge zeigen bis etwa 4 Monate nach der Geburt noch ein gewisses Wachstum (TURNER und GOMEZ 1933).

Die Gruppe der weiblichen kastrierten unbehandelten Kontrollen (Abbildung 11) zeigt keine alveolären Strukturen. Unterschiede im Grad der Gangentwicklung zum nichtkastrierten weiblichen Tier lassen sich lediglich an den weniger ausgebildeten Seitengängen erkennen, Seiten- und Endknospen fehlen.

Zwischen der Gruppe der männlichen kastrierten unbehandelten Kontrollen und der Gruppe der normalen männlichen

Tiere ist kein Unterschied erkennbar. Das Gangsystem ist relativ gut ausgebildet, Alveolen sind nicht vorhanden (Abbildung 13).

Auch die Gruppe der weiblichen kastrierten mit Progesteron behandelten Tiere zeigt keine Entwicklung von Alveolen. Das Gangsystem ist etwas stärker ausgebildet als bei den weiblichen kastrierten unbehandelten Kontrollen. Insbesondere der Durchmesser der Gänge ist deutlich erkennbar größer. Die Anzahl der Gänge und Seitenäste ist größer (Abbildung 15).

Die anfangs erwähnte Beobachtung, daß sich eine gewisse Gangentwicklung bis zu einem Alter von 3 Monaten nach der Geburt bei männlichen Tieren feststellen läßt, scheint sich bei den mit Progesteron behandelten Gruppen zu bestätigen (Alter der Gruppen 5 und 6: ca. 4 Monate). Das Gangsystem zeigt eine größere Ausdehnung im Vergleich zu den unbehandelten männlichen Kontrollen. Die Stärke der Gänge und die Anzahl der Seitenäste sind jedoch geringer als bei den weiblichen mit Progesteron behandelten Tieren (Abbildung 17).

Die kastrierten mit Östron behandelten weiblichen Tiere zeigen eine sehr gute Milchdrüsenentwicklung. Gänge sind infolge der dichten Bepackung mit Alveolen nicht mehr in der Ganzdarstellung zu erkennen. Es bleiben nur vereinzelt Zwischenräume, die einen Einblick in die innere Struktur zulassen. Durch den sich dreidimensional ausdehnenden Drüsenkörper sind die Präparate nicht mehr lichtdurchlässig. Ausschnittsvergrößerungen sind deshalb nicht möglich. Zur näheren Betrachtung des inneren Aufbaus muß auf die Methode der Milchdrüsenhistologie verwiesen werden (Abbildung 19).

Bei den kastrierten mit Östron behandelten männlichen Tieren ähnelt das Bild dem der entsprechenden weiblichen Gruppe hinsichtlich der guten lobulo-alveolären Entwicklung. Die flächenmäßige Ausdehnung des Drüsenkörpers steht jedoch hinter der der weiblichen Gruppe zurück. Der Drüsenkörper erscheint durchsichtiger und Zwischenräume im sekretorischen Gewebe sind häufiger (Abbildung 20).

Die Milchdrüsen der Gruppe der weiblichen kastrierten mit Östron und Progesteron behandelten Tiere zeigt die stärkste Entwicklung sekretorischen Gewebes. Die lobulo-alveoläre Struktur ist voll entwickelt, Einzelheiten lassen sich in den Präparaten nicht unterscheiden (Abbildung 21).

Der Grad des Milchdrüsenaufbaus der Gruppe der männlichen kastrierten mit Östron und Progesteron behandelten Tiere ist dem der weiblichen nur mit Östron behandelten Tiere qualitativ gleichzusetzen. Eine gute lobulo-alveoläre Entwicklung mit gelegentlich nicht ausgefüllten Zwischenräumen weist auf eine gute Stimulierungswirkung auch bei dieser männlichen Gruppe hin. Gegenüber der weiblichen mit Östron und Progesteron behandelten Gruppe ist die Entwicklung der männlichen Milchdrüsen quantitativ deutlich geringer (Abbildung 22).

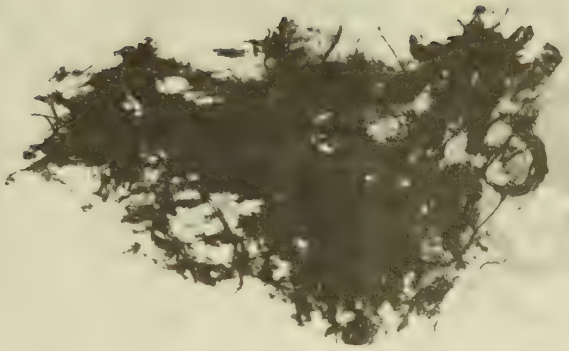


Abbildung 6 ♀ Kontrolle normal

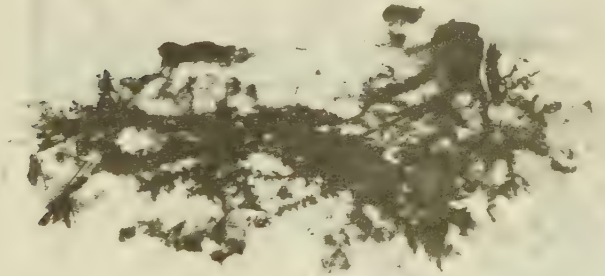


Abbildung 7 ♀ Kontrolle normal

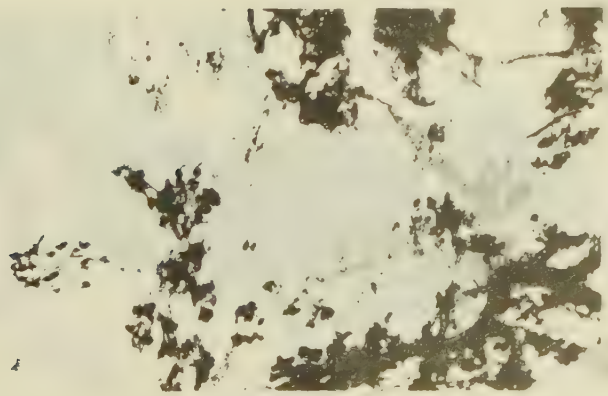


Abbildung 8 ♀ Kontrolle normal
(vergrößerter Ausschnitt)

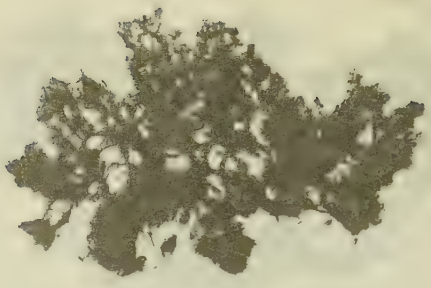


Abbildung 9 ♂ Kontrolle normal

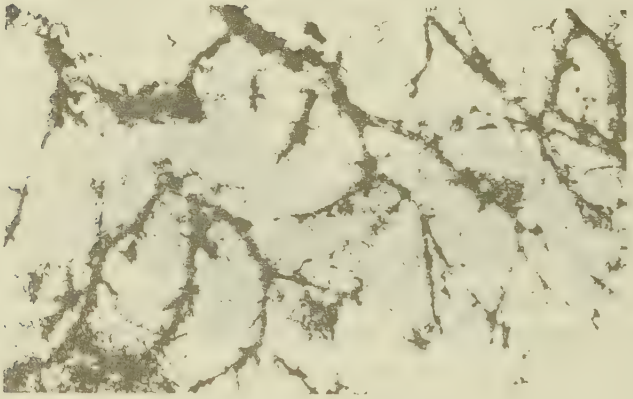


Abbildung 10 ♂ Kontrolle normal
(vergrößerter Ausschnitt)

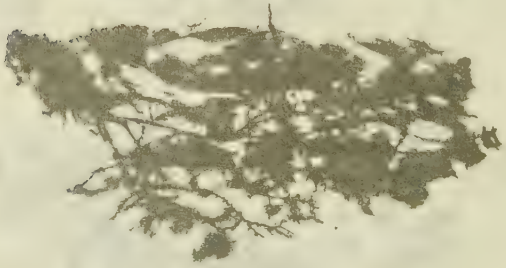


Abbildung 11 ♀ Kontrolle

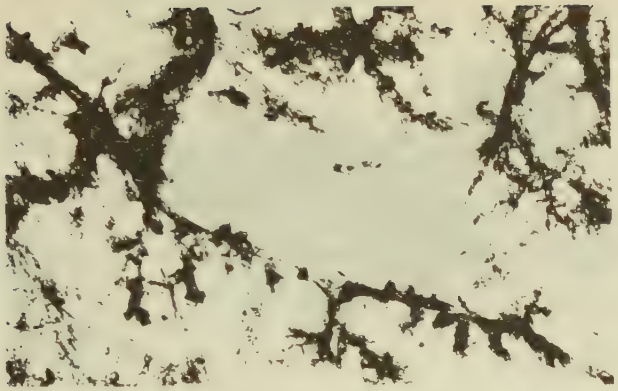


Abbildung 12 ♀ Kontrolle
(vergrößerter Ausschnitt

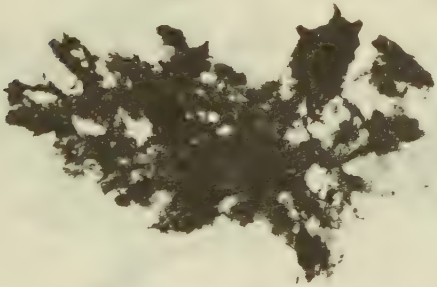


Abbildung 13 ♂ Kontrolle

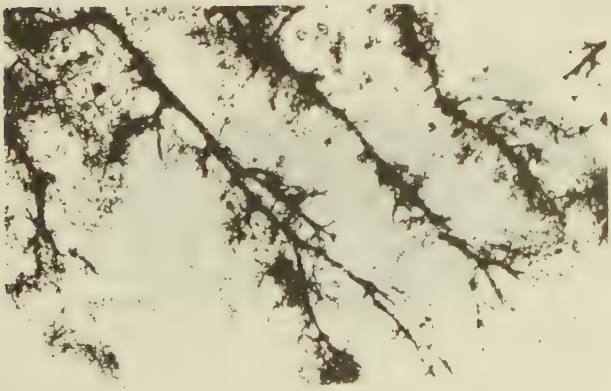


Abbildung 14 ♂ Kontrolle
(vergrößerter Ausschnitt)

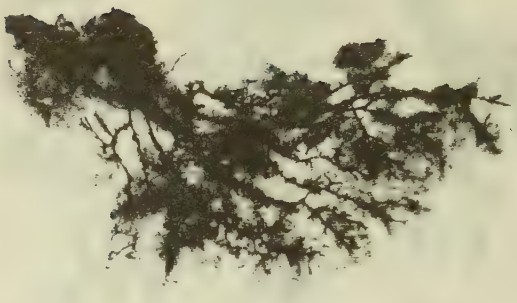


Abbildung 15 ≙ Progesteron

Abbildung 16 ≙ Progesteron
(vergrößerter Ausschnitt)

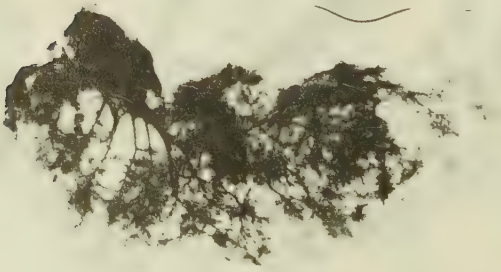


Abbildung 17 ≙ Progest...

Abbildung 18 : Progesteron
(vergrößerter Ausschnitt)

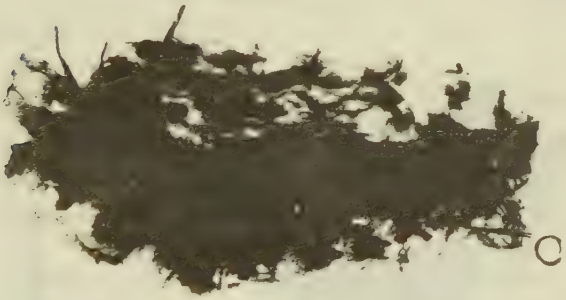


Abbildung 19 : Östron

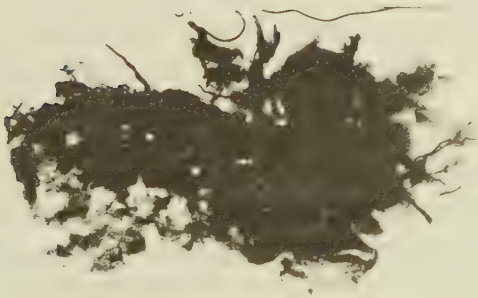


Abbildung 20 : Östron

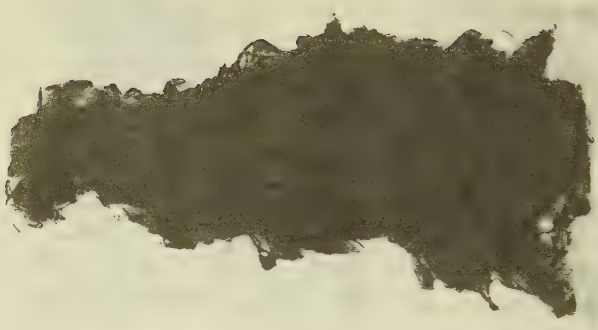


Abbildung 21 ♀ Östron + Progesteron

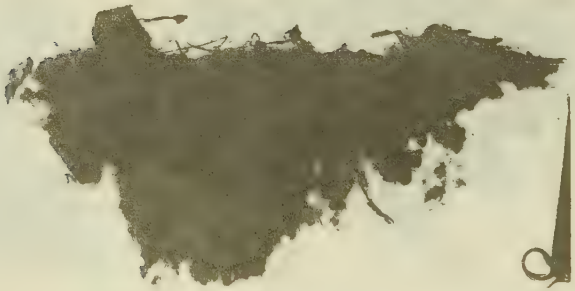


Abbildung 22 ♂ Östron + Progesteron

3.2. MILCHDRÜSENHISTOLOGIE I. VERSUCHSSERIE

Die Ergebnisse der Milchdrüsenganzdarstellung ("whole mount") werden durch die histologische Auswertung bestätigt und ergänzt. Insbesondere die Struktur der gut entwickelten Drüsen, die sich durch die "whole mounts" nur schlecht darstellen läßt, wird durch die histologischen Präparate klar erkennbar.

Bei den weiblichen unbehandelten Kontrolltieren ist das Fettgewebe der Milchdrüsen von großlumigen Gängen durchzogen, Alveolen sind in geringer Anzahl vorhanden (Abbildungen 23 und 24).

Die männlichen unbehandelten Kontrolltiere zeigen fast ausschließlich Fettgewebe, durchzogen von einzelnen Bindegewebssepten und englumigen Drüsengängen (Abbildungen 25 und 26).

Bei weiblichen kastrierten unbehandelten Meerschweinchen ist das Fettgewebe von Drüsengängen durchzogen. Die Anzahl der Gänge ist im Vergleich zu nichtkastrierten weiblichen Tieren geringer (Abbildungen 27 und 28).

Die histologischen Bilder der männlichen kastrierten unbehandelten Kontrolltiere und der weiblichen und männlichen mit Progesteron behandelten Tiere entsprechen denen der weiblichen kastrierten Kontrolltiere: Gänge und Bindegewebssepten, keine Alveolen.

Im histologischen Aufbau ist zwischen den weiblichen und männlichen mit Östron behandelten Tieren kein Unterschied zu erkennen. Die Drüsen bestehen aus großlumigen Gängen, zwischen denen Komplexe dicht gepackter Alveolen liegen. Die vergrößerten Ausschnitte zeigen deutlich

die ringförmigen, von Zellen des sekretorischen Gewebes gebildeten alveolären Strukturen.

Die Ergebnisse der Milchdrüsenganzdarstellung der weiblichen kastrierten mit Östron und Progesteron behandelten Tiere werden durch die Milchdrüsenhistologie eindrucksvoll ergänzt und bestätigt. Auch die histologische Auswertung der Milchdrüsen dieser Gruppe zeigt die stärkste Entwicklung sekretorischen Gewebes im Vergleich zu allen anderen Versuchsgruppen. Großlumige Alveolen und zu Zisternen erweiterte Ducti lactiferi haben das Fettgewebe weitgehend verdrängt (Abbildungen 29 und 30).

Im Vergleich zu der weiblichen mit Östron und Progesteron behandelten Gruppe ist bei der entsprechend behandelten männlichen Gruppe das aktive Drüsengewebe nur inselartig im umgebenden Fettgewebe verteilt. Die qualitative Entwicklung ist im Vergleich mit den Gruppen, die mit Östron behandelt wurden, gleich. Aus der Milchdrüsenhistologie läßt sich jedoch auch auf eine quantitativ weniger starke Wirkung derselben Hormondosis bei männlichen Tieren schließen (Abbildungen 31 und 32).

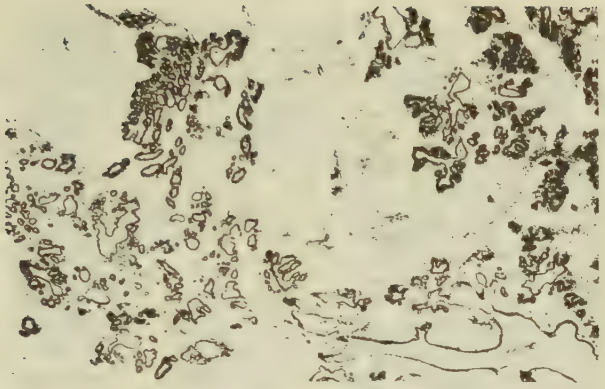


Abbildung 23 ♀ Kontrolle normal

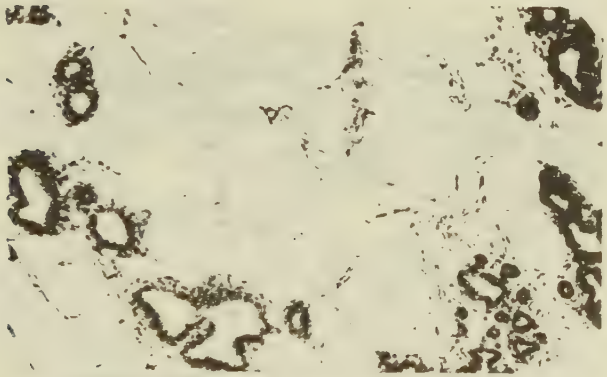


Abbildung 24 ♀ Kontrolle normal

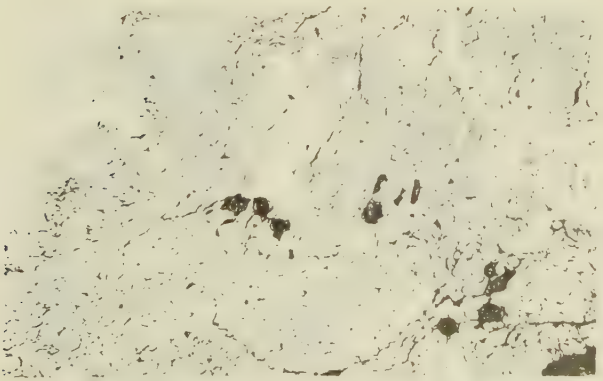


Abbildung 25 ♂ Kontrolle normal

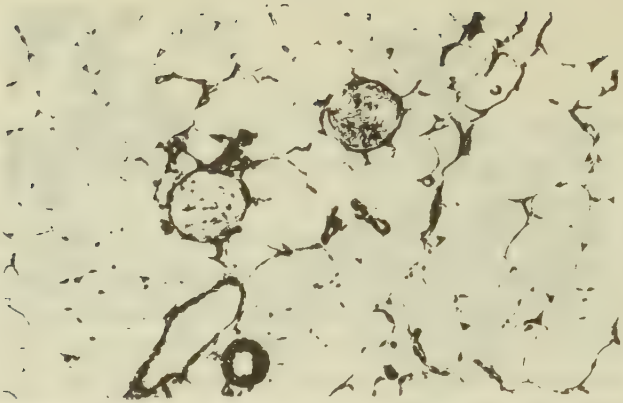


Abbildung 26 ♂ Kontrolle normal

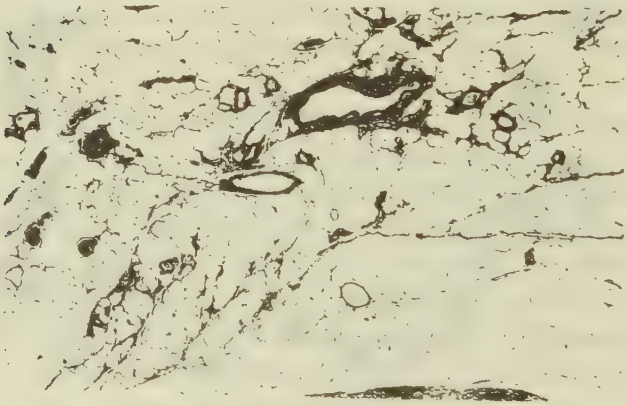


Abbildung 27 ♀ Kontrolle

Abbildung 28 ♀ Kontrolle

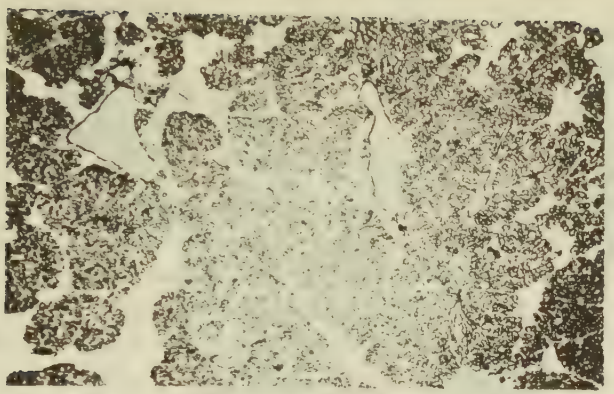


Abbildung 29 ♂ Östron + Progesteron

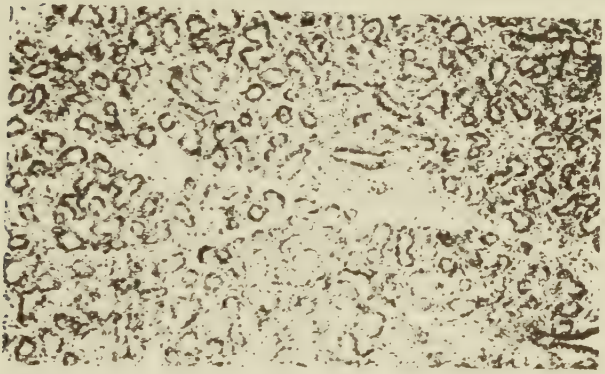


Abbildung 30 ♂ Östron + Progesteron

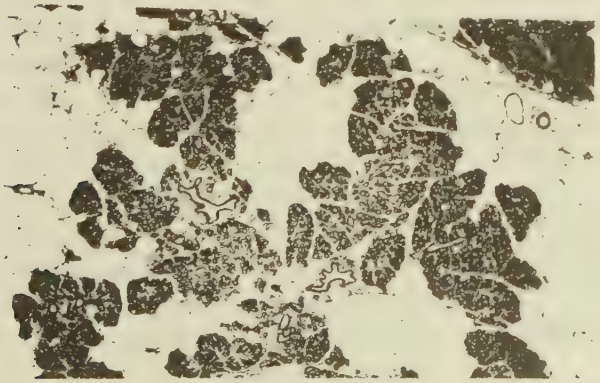


Abbildung 31 ♂ Östron + Progesteron

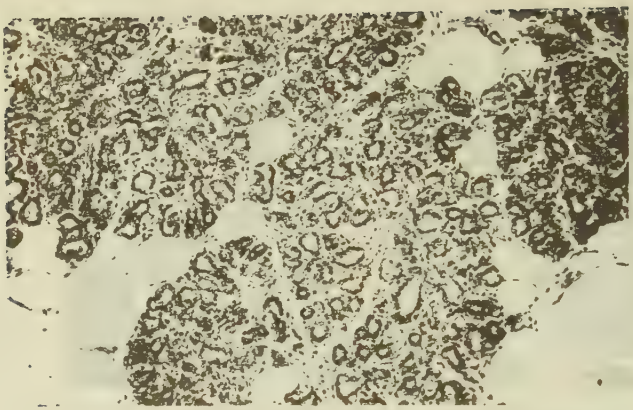


Abbildung 32 ♂ Östron + Progesteron

MILCHDRÜSENHISTOLOGIE II. VERSUCHSSERIE

Von jeder Gruppe der Versuchsserie II wurden Serienschnitte (5 µ) angefertigt. Alle mikroskopischen Präparate lassen die Entwicklung von Milchdrüsengewebe in Abhängigkeit von der verabreichten Hormondosis erkennen. Die Schnitte der kastrierten unbehandelten Kontrolltiere zeigen fast ausschließlich Fettgewebe. Bei einer Dosis von 0.1 µg Östron ist bei allen Gruppen keine Entwicklung von Drüsengewebe erkennbar (Abbildungen 33 und 34). Bereits bei 1 µg Östron sind Alveolen und Drüsengänge vorhanden (Abbildungen 35 und 36). Das Fettgewebe ist von Drüsengewebe durchzogen. Bei den weiblichen, ausschließlich mit Östron behandelten Tieren und bei allen männlichen Gruppen (Östron + Östron/Progesteron) lassen sich im histologischen Bild bei hohen Dosen kaum Unterschiede in der qualitativen und quantitativen Ausbildung der Drüsen feststellen. Lediglich die weiblichen Gruppen, die mit Östron/Progesteron Kombinationen behandelt wurden, sind histologisch von allen anderen Gruppen unterscheidbar. Das Fettgewebe ist bei diesen weiblichen Tieren bereits bei einer Dosis von 5 µg Östron + 1 mg Progesteron fast vollständig durch Drüsengewebe ersetzt (Abbildungen 37 und 38). Bei 7.5 µg Östron + 1 mg Progesteron sind einige mit Sekret gefüllte Alveolen bei weiblichen Tieren erkennbar. Nach einer Behandlung mit 10 oder 15 µg Östron + 1 mg Progesteron sind die Unterschiede zu allen anderen Gruppen signifikant. Fettgewebe ist nur an den Randbezirken zu beobachten, die Drüse bildet einen einheitlichen Gewebskomplex, der ausschließlich aus Alveolen und Drüsengängen besteht. Der Durchmesser der Alveolen erreicht etwa den Wert, der während des letzten Drittels einer normalen Gravidität gemessen werden kann. Fast alle Alveolen sind mit Sekret gefüllt (Abbildungen 41 und 42).

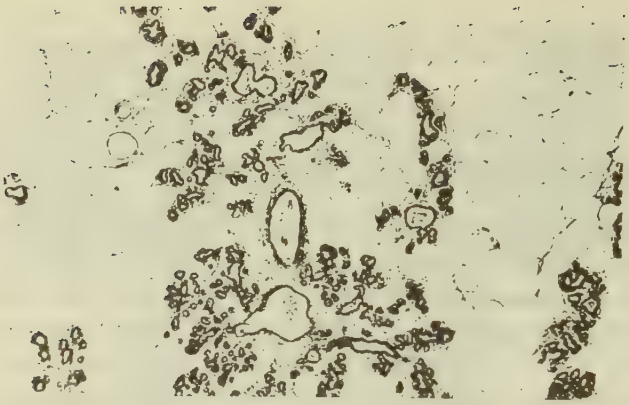


Abbildung 33 ♂ 0.1 µg Östron + 1 mg Progesteron

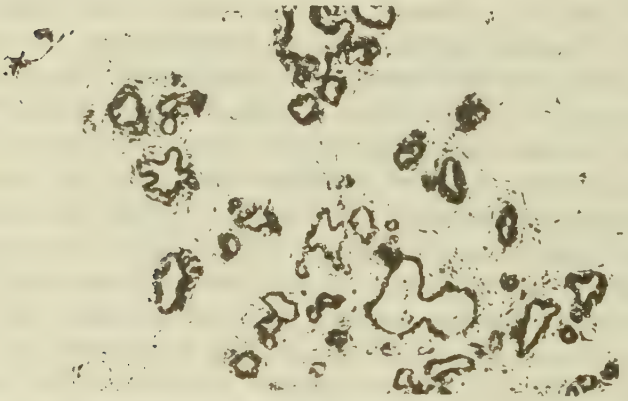


Abbildung 34 ♂ 0.1 µg Östron + 1 mg Progesteron

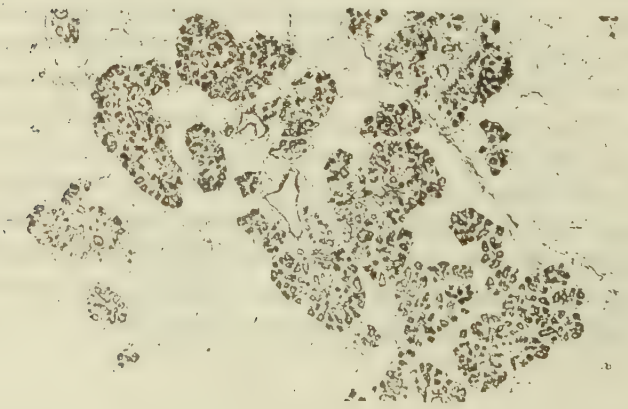


Abbildung 35 ♂ 1 µg Östron + 1 mg Progesteron

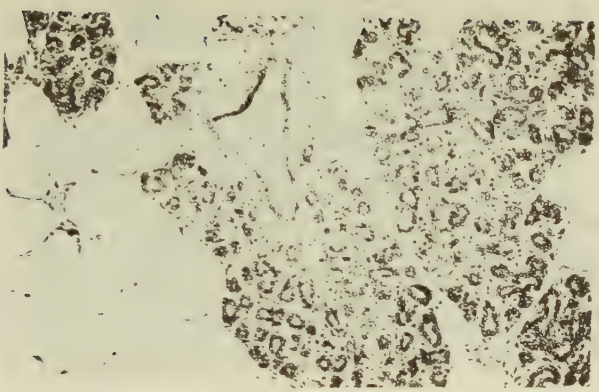


Abbildung 36 ♀ 1 µg Östron + 1 mg Progesteron

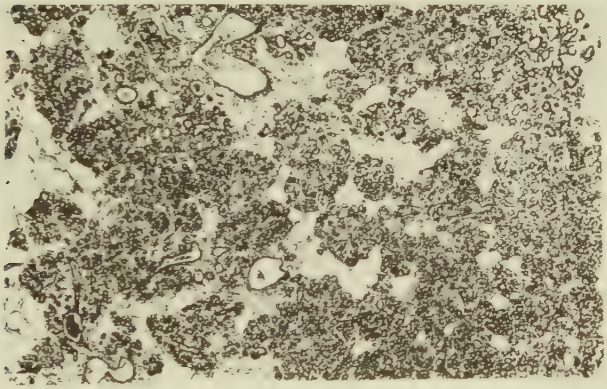


Abbildung 37 ♀ 5 µg Östron + 1 mg Progesteron

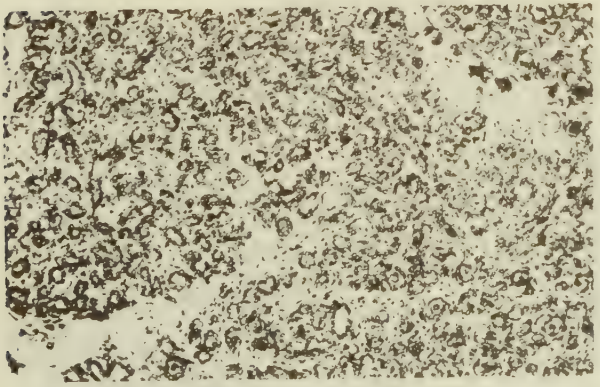


Abbildung 38 ♀ 5 µg Östron + 1 mg Progesteron

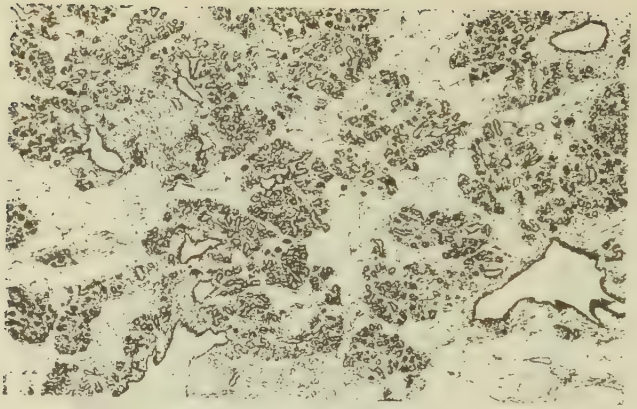


Abbildung 39 ♂ 5 µg Östron + 1 mg Progesteron

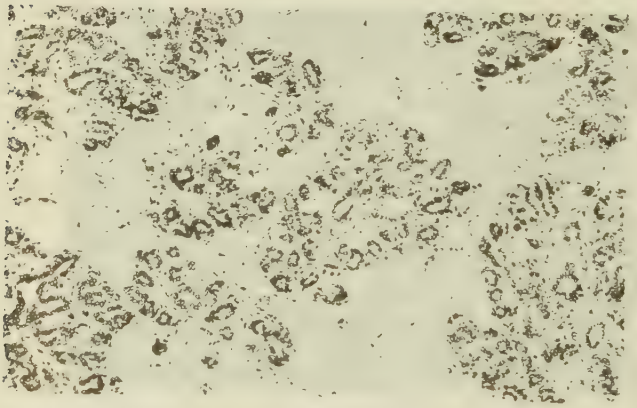


Abbildung 40 ♂ 5 µg Östron + 1 mg Progesteron

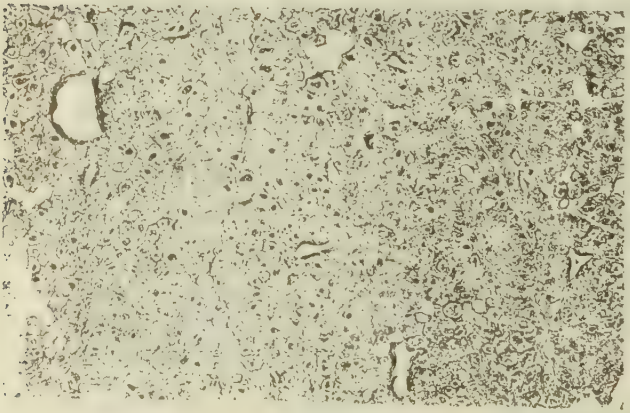


Abbildung 41 ♂ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

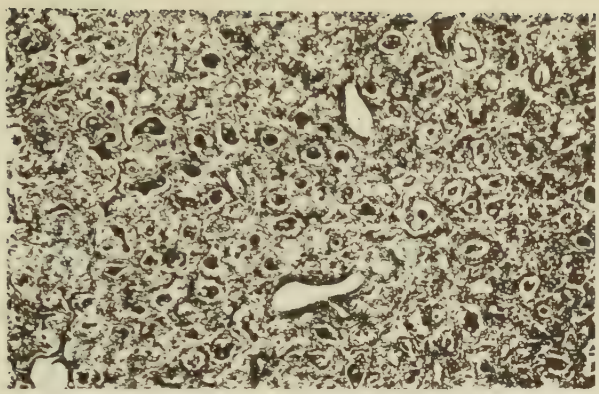


Abbildung 42 ♂ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

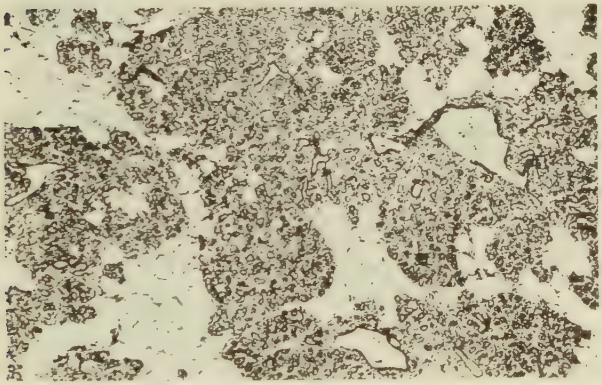


Abbildung 43 ♂ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

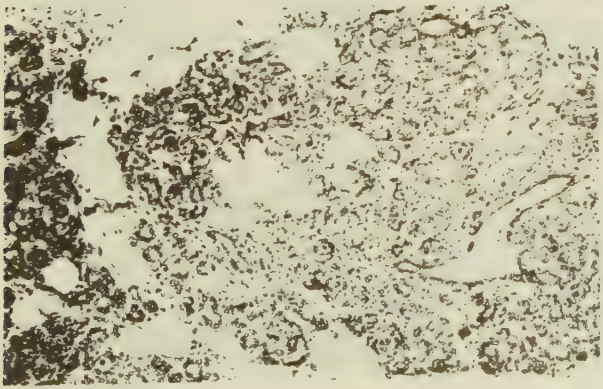


Abbildung 44 ♂ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

MILCHDRÜSENHISTOLOGIE III. VERSUCHSSERIE

Die kastrierten unbehandelten Kontrollgruppen lassen erwartungsgemäß histologisch keine Entwicklung sekretorischen Milchdrüsengewebes erkennen. Bei allen anderen Gruppen, einschließlich der während der Embryonalentwicklung mit Androgen oder Antiandrogen behandelten Tiere, sind kaum histologische Unterschiede in der Milchdrüsenstruktur festzustellen: Alveolen und Milchgänge sind gut entwickelt. Die qualitative Ausbildung der Milchdrüsen ist durch Cyproteronacetat und Methyltestosteron nicht verändert. Unterschiede lassen sich zwischen den Gruppen 3 bis 8 nicht feststellen. Lediglich die weibliche Kontrollgruppe 3 unterscheidet sich von den anderen Gruppen durch relativ große Alveolen, die fast alle mit Sekret gefüllt sind (Abbildungen 45 und 46). Bei allen anderen Gruppen ist Sekret nur selten in den Ducti lactiferi histologisch nachweisbar (Abbildungen 47 bis 56). Die feminisierende Wirkung des Cyproteronacetats reichte nicht aus, um bei den männlichen Tieren die Bildung von Sekret in den Alveolen zu induzieren (Abbildungen 51 und 52). Methyltestosteron verhinderte die Sekretionstätigkeit der Alveolen bei den weiblichen Tieren (Abbildungen 53 und 54).

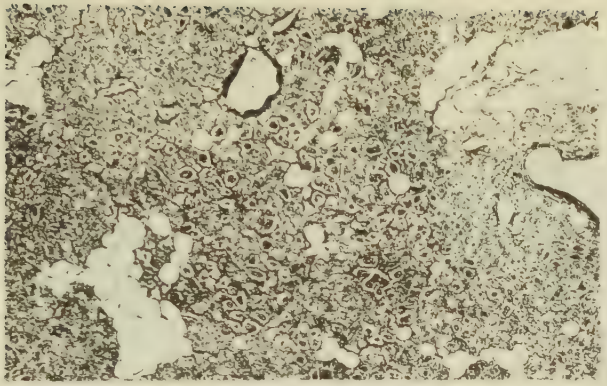


Abbildung 45 ♀ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

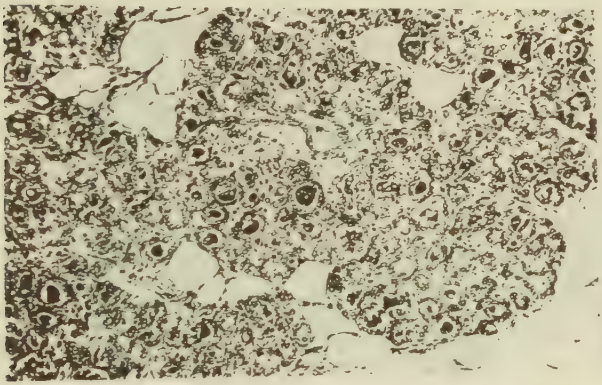


Abbildung 46 ♀ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

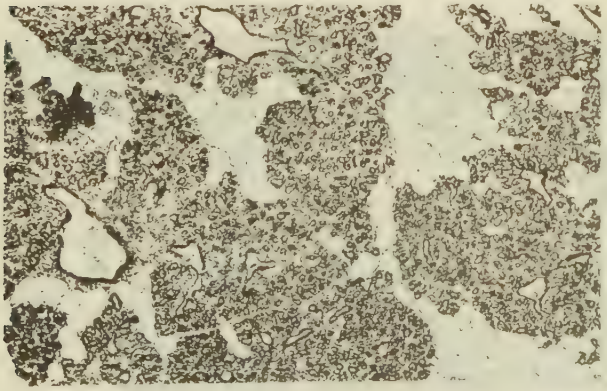


Abbildung 47 ♂ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

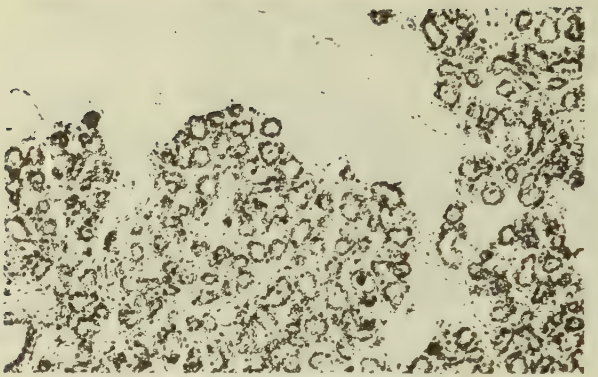


Abbildung 48 ♂ 10 µg Östron + 1 mg Progesteron

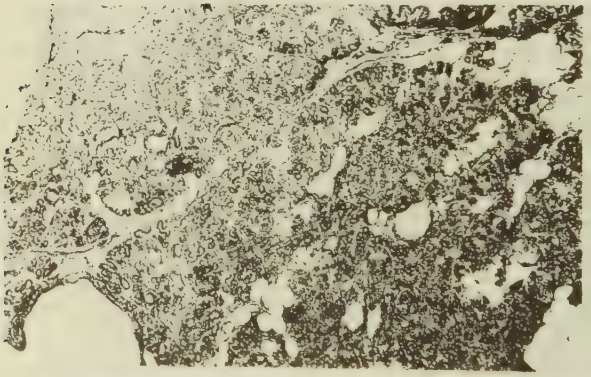


Abbildung 49 ♀ Cyproteronacetat
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

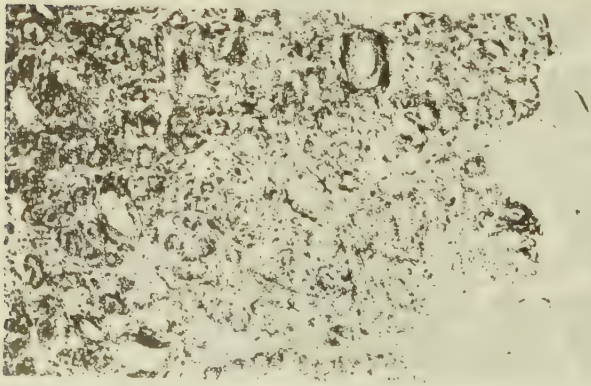


Abbildung 50 ♀ Cyproteronacetat
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

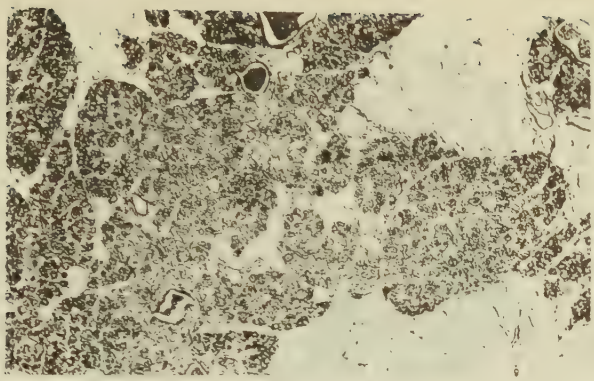


Abbildung 51 ♂ Cyproteronacetat
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

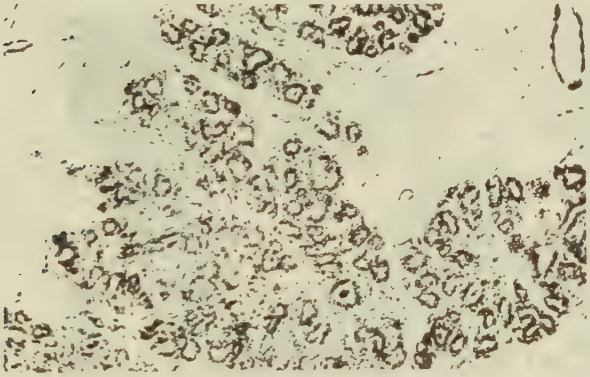


Abbildung 52 ♂ Cyproteronacetat
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

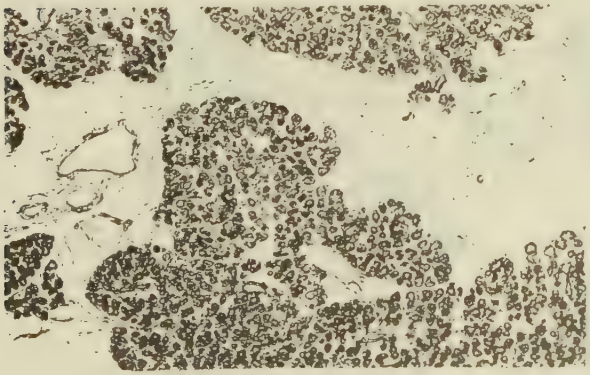


Abbildung 53 ♂ Methyltestosteron
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

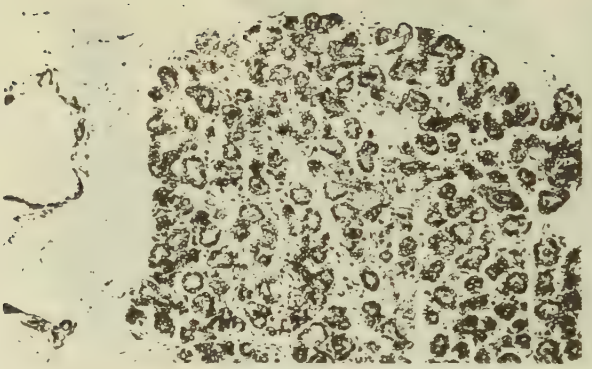


Abbildung 54 ♀ Methyltestosteron
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

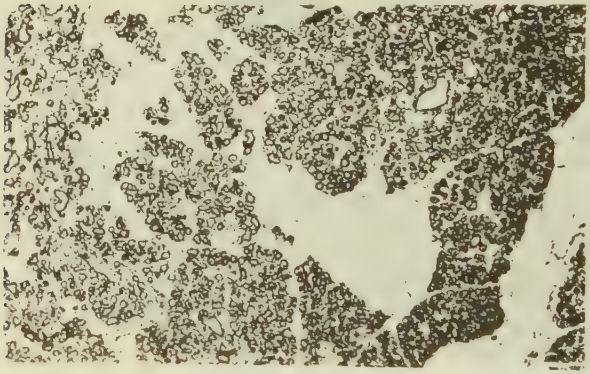


Abbildung 55 ♂ Methyltestosteron
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

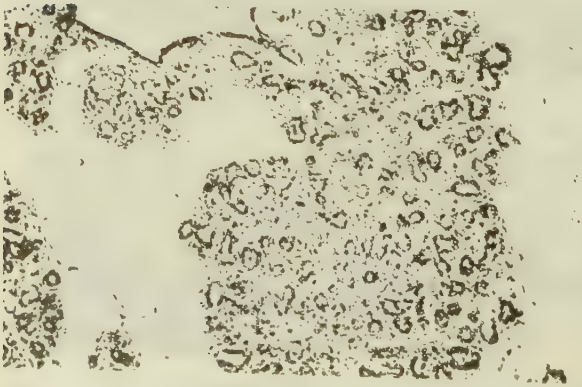


Abbildung 56 ♂ Methyltestosteron
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

3.3. DNS-BESTIMMUNG I. VERSUCHSSERIE

DNS-Gehalt der Milchdrüse I. Versuchsserie

Gruppe	Geschlecht	Gonad-ektomie	Behand-lung	Zahl der Tiere	Körper-gewicht (g) $\bar{x}$	MDG/Drüse (mg) $\bar{x}$	µg DNS/ Milchdrüse $\bar{x}$±S.E.M.
1	♀			10	600,2	168,6	1036± 70
2	♂			10	735,1	120,7	1034± 71
3	♀	x		10	563,1	134,1	780± 66
4	♂	x		10	658,7	195,2	855± 78
5	♀	x	P	10	730,7	184,0	1099± 52
6	♂	x	P	10	770,8	188,7	1265±102
7	♀	x	Ö	10	498,7	120,9	1250±110
8	♂	x	Ö	10	580,0	151,6	1430± 89
9	♀	x	Ö+P	10	535,0	244,8	2974±164
10	♂	x	Ö+P	10	556,0	144,5	1763± 50

P = Progesteron
Ö = Östron
MDG = Milchdrüsentrockengewicht (Milchdrüsengewicht n.d.Wasser- und Fettextraktion)

Abbildung 57

Alle Standardabweichungen wurden nach der Formel berechnet:

$$S = \sqrt{\frac{\Sigma (\bar{x}-x_i)^2}{n-1}}$$

Abbildung 58

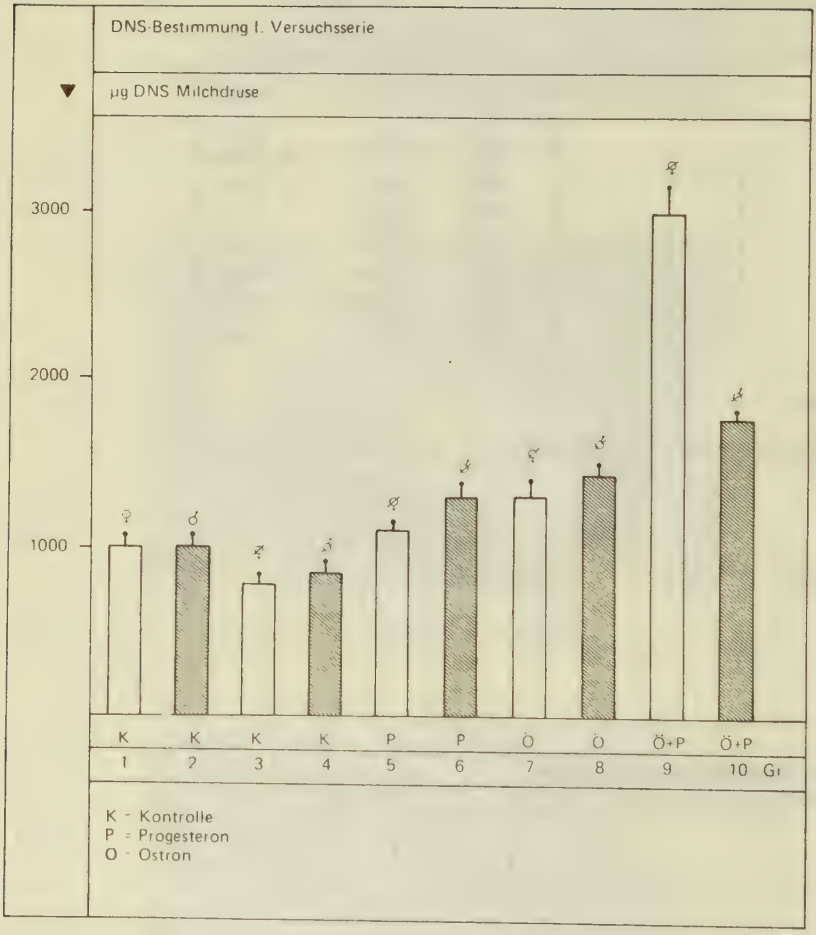


Abbildung 59

Statistische Auswertung durch den Computer:
(U-Test)
µg DNS/Milchdrüse

Signifikanzmatrix
oben rechts = Testwahrscheinlichkeiten P
unten links = empirische U-Werte

Gruppe	1 KN ♀	2 KN ♂	3 KK ♀	4 KK ♂	5 P ♀	6 P ♂	7 Ö ♀	8 Ö ♂	9 ÖP ♀	10 ÖP ♂
1 KN ♀	-	-	5	-	-	-	10	1	1	1
2 KN ♂	44,0	-	2	-	-	-	5	1	1	1
3 KK ♀	21,0	17,5	-	-	1	1	1	1	1	1
4 KK ♂	40,0	40,0	31,0	-	-	-	10	5	1	1
5 P ♀	39,0	47,0	11,0	37,0	-	-	10	1	1	1
6 P ♂	25,0	28,0	8,0	25,0	33,0	-	-	-	1	1
7 Ö ♀	24,0	23,0	4,0	27,0	26,0	42,0	-	-	1	1
8 Ö ♂	13,0	12,0	5,0	22,0	16,0	31,0	32,0	-	1	1
9 ÖP ♀	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-	1
10 ÖP ♂	0,0	0,0	0,0	11,0	0,0	8,0	3,0	15,0	0,0	-

Abbildung 60

\- = kein signifikanter Unterschied (P > 0.10)
10 = Signifikanz auf dem 10%-Niveau (P < 0.10)
5 = Signifikanz auf dem 5 %-Niveau (P < 0.05)
2 = Signifikanz auf dem 2 %-Niveau (P < 0.02)
1 = Signifikanz auf dem 1 %-Niveau (P < 0.01)
Stichprobenumfang für eine Entscheidung auf dem 10%-Niveau zu klein.

Die durch die "whole mount preparation" und Milchdrüsenhistologie gewonnenen Ergebnisse lassen sich durch die Bestimmung des DNS-Gehaltes der Drüsen präzisieren.

Abbildung 59 zeigt übersichtlich die zum Teil erheblich differierenden DNS-Mengen der Drüsen, bezogen auf das Körpergewicht der Tiere.
Die niedrigsten Werte weisen die Gruppen 2, 3, 4, 5 und 6 auf. Die männlichen unbehandelten Kontrollen, die weiblichen kastrierten, unbehandelten Kontrollen und die männlichen kastrierten, unbehandelten Kontrollen zeigen keine signifikanten Unterschiede. Die Ovarektomie hat bei der weiblichen unbehandelten Kontrollgruppe einen um ca. 25 % niedrigeren DNS-Gehalt der Drüsen zur Folge. Bei den männlichen Tieren tritt erwartungsgemäß keine wesentliche Änderung im DNS-Gehalt der Drüsen durch Kastration auf.
Im Vergleich zu den kastrierten, unbehandelten Kontrollgruppen liegen die Werte der mit Progesteron behandelten Gruppen geringfügig höher, untereinander besteht keine signifikante Differenz.
Deutlich erhöht ist der Nucleinsäuregehalt bei den Gruppen, die mit Östron behandelt wurden. Die Werte sind bei der weiblichen Gruppe gegenüber der weiblichen kastrierten Kontrollgruppe um 38 % erhöht. Die Werte der entsprechenden männlichen Gruppe unterscheiden sich nicht signifikant von der zuletzt genannten weiblichen Gruppe.
Die stärkste Erhöhung des DNS-Gehaltes zeigen die Werte der Gruppe 9, der weiblichen kastrierten, mit Östron und Progesteron behandelten Tiere. Der Gehalt an Nucleinsäure ist gegenüber den weiblichen kastrierten, unbehandelten Kontrollen um 280 % erhöht. Die DNS-Menge, die in den Drüsen der männlichen kastrierten, mit Östron und Progesteron behandelten Tiere gebildet wurde, ist im Vergleich zu den gleich behandelten weiblichen Tieren um ca. 40 % niedriger. Dieser Wert ist aber signifikant höher als der der Gruppen, die nur mit Östron behandelt wurden.

Geschlechtsunterschiede lassen sich eindeutig zwischen den Gruppen der normalen, unbehandelten Tiere und den Gruppen der Tiere, die mit Östron und Progesteron behandelt wurden, beobachten.
Die männliche kastrierte, mit Östron behandelte Gruppe zeigt einen nicht signifikanten, geringfügig höheren Wert gegenüber den weiblichen gleich behandelten Tieren.

DNS-BESTIMMUNG II. VERSUCHSSERIE

DNS-Gehalt der Milchdrüsen II. Versuchsserie

Dosis (µg Östron)*	♀ KG (g) x̄±S.E.M.	♀ MDG (mg) x̄±S.E.M.	♀ DNS (µg) x̄±S.E.M.	♂ KG (g) x̄±S.E.M.	♂ MDG (mg) x̄±S.E.M.	♂ DNS (µg) x̄±S.E.M.
0,1	579±21	92±13	828±153	558±15	44± 4	215± 5
1	577±23	106± 9	1211±137	609± 8	79± 7	859± 97
2,5	612±12	122± 8	1089±124	580±12	92± 8	982±120
5	535±12	112± 6	1637±137	595±15	92± 4	925± 50
7,5	529±13	107± 5	1696±216	607±12	86± 2	982±136
10	571±23	110± 6	1603±114	582±14	84± 3	826± 59
15	505± 5	107± 9	1255±118	608± 6	84± 7	831±129
(µg Östron + 1 mg Progesteron)*						
0,1	602±31	74± 5	442± 24	565±43	54± 6	305± 19
1	634±16	142± 3	1459±108	639± 8	101± 5	1392± 56
2,5	608±16	150± 6	1628± 35	616±22	109± 5	1491±162
5	576±16	163± 9	2740±109	578±13	110± 2	1722±224
7,5	566±22	224±20	4066±290	611±16	110± 8	1488±199
10	572±10	201±13	3377±327	569± 6	107± 7	1378±172
15	569±19	210±14	3263±334	602±25	111±10	1466± 95

KG = Körpergewicht
MDG = Milchdrüsengewicht (nach der Wasser- und Fettextraktion)
DNS = Desoxyribonukleinsäure pro Milchdrüse
* = s.c./pro die

Anzahl der Tiere pro Gruppe: 5
Behandlungsdauer: 40 Tage

Abbildung 61

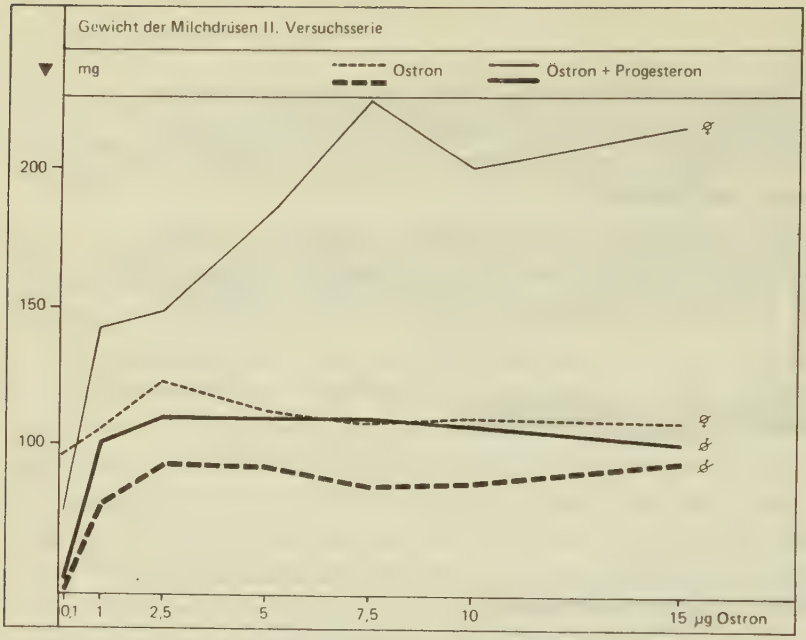


Abbildung 62

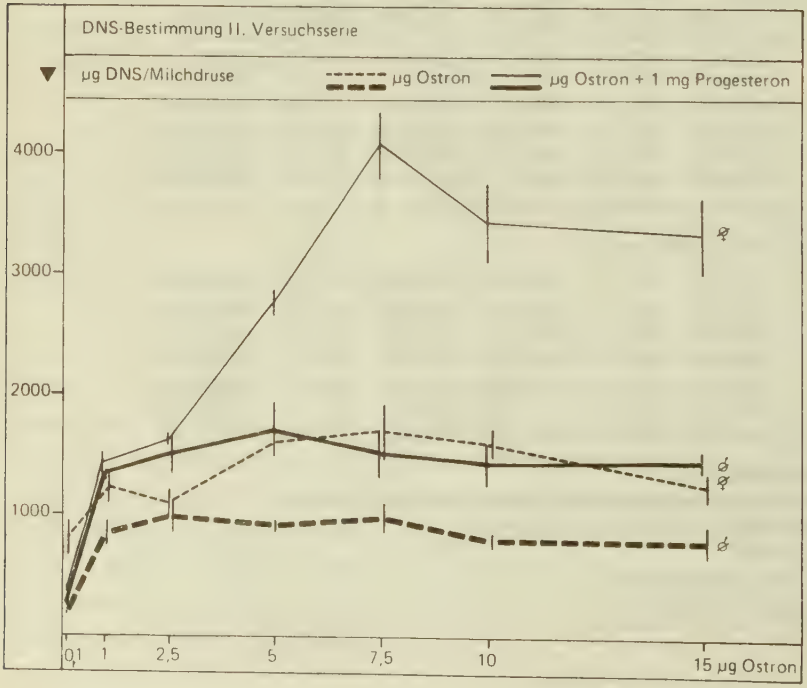


Abbildung 63

Die Ergebnisse der ersten Versuchsserie ließen den Schluß zu, daß nur die Kombination Östron/Progesteron die Milchdrüsenentwicklung geschlechtsunterschiedlich stimuliert. Die DNS-Bestimmung ergab bei den mit 30 µg Östron behandelten Gruppen keine signifikanten Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren. Es erschien deshalb sinnvoll, die Milchdrüsenentwicklung in Abhängigkeit von der applizierten Hormondosis quantitativ zu bestimmen, um festzustellen, ob bei niedrigen Hormonkonzentrationen eventuell eine geschlechtsspezifisch unterschiedliche Reaktion deutlich wird.

Die Abbildung 63 zeigt bei verschiedenen Dosen Östron bzw. Östron/Progesteron signifikant unterschiedliche DNS-Werte bei den Geschlechtern. Auch bei ausschließlicher Gabe von Östron sind bis zu einer Dosis von 15 µg die DNS-Werte der männlichen Gruppen signifikant niedriger im Vergleich zu denen der weiblichen Tiere (Abbildung 63). Mit steigender Dosis Östron nähern sich die Kurven der DNS-Werte. Bei 30 µg (erste Versuchsserie) sind die Drüsen offenbar überstimuliert, eine geschlechtsunterschiedliche Reaktion der Milchdrüsen ist nicht feststellbar.

Unter der Voraussetzung physiologische Bedingungen zu simulieren, ist die Untersuchung der Milchdrüsenentwicklung nach Applikation von Östron/Progesteron Kombinationen bedeutungsvoller. Die Progesterondosis wurde in Versuchsserie II konstant gehalten (1 mg), die Östron-Dosen wurden variiert (Abbildung 63).
Bei beiden Geschlechtern ist über den gesamten Dosisbereich von 1 bis 15 µg Östron + 1 mg Progesteron die synergistische Wirkung des Progesterons erkennbar. Progesteron allein induziert keine Milchdrüsenentwicklung (Versuchsserie I, Abbildungen 15 bis 18). Sowohl weibliche als auch männliche Tiere zeigen nach zusätzlicher Progesterongabe signifikant stärker entwickelte Milchdrüsen im Vergleich zu den ausschließlich mit Östron behandelten Gruppen. Im Dosisbereich 5 bis 15 µg

Östron sind die DNS-Werte männlicher Tiere nach zusätzlicher Progesterongabe um durchschnittlich 70 % höher als die der nur mit Östron behandelten Gruppen.
Offenbar ist auch die potenzierende Wirkung des Progesterons auf die Milchdrüsenentwicklung weiblicher Tiere signifikant größer. Im selben Dosisbereich beträgt der Unterschied zwischen weiblichen nur mit Östron und weiblichen mit der Kombination behandelten Tieren 120 %.

Der größte Geschlechtsunterschied hinsichtlich der Milchdrüsenentwicklung wurde bei einer Dosis von 7.5 µg Östron + 1 mg Progesteron festgestellt: 180 %.

Die Ergebnisse der Milchdrüsengewichtsbestimmung nach der Wasser- und Fettextraktion stimmen weitgehend mit den DNS-Werten dieser Drüsen überein (Vergleich Abbildung 62 und Abbildung 63).

Statistische Auswertung der DNS-Bestimmung Versuchsserie II

2-faktorielle Varianzanalyse mit Wiederholungen je Dosis

Dosis/ Variable	Varianzursache						Rest-fehler (s^2)
	zw.Geschlecht.		zw.Behandl.		WW G x B		
	F-Wert	FG	F-Wert	FG	F-Wert	FG	
0,1 µg DNS	33,41++	1;16	4,94+	1;16	13,83++	1;16	19074
MDG	21,64++	"	0,31-	"	3,55-	"	272
1 µg DNS	1,08-	"	13,91++	"	0,25-	"	79285
MDG	36,39++	"	27,91++	"	1,65-	"	157
2,5 µg DNS	1,04-	"	19,10++	"	0,02-	"	71725
MDG	27,68++	"	11,30++	"	0,57-	"	228
5 µg DNS	35,90++	"	43,27++	"	1,12-	"	104228
MDG	20,08++	"	18,39++	"	6,33+	"	538
7,5 µg DNS	58,12++	"	44,31++	"	19,14++	"	230712
MDG	38,25++	"	41,49++	"	18,44++	"	594
10 µg DNS	62,51++	"	33,45++	"	13,98++	"	173489
MDG	51,33++	"	45,07++	"	16,26++	"	355
15 µg DNS	32,64++	"	46,21++	"	12,45++	"	189063
MDG	35,55++	"	39,34++	"	13,79++	"	532

DNS = Desoxyribonukleinsäure
MDG = Milchdrüsengewicht
WW = Wechselwirkung
\- = kein signifikanter Unterschied ($P > 0,05$)
\+ = signifikanter Unterschied ($P < 0,05$)
++ = signifikanter Unterschied ($P < 0,01$)

Abbildung 64

3-faktorielle Varianzanalyse mit Wiederholungen

Faktoren: (D) Dosen = 6
(G) Geschlechter = 2
(B) Behandlung = 2

Wiederholungen = Restfehler

Varianzursache	DNS/Drüse F-Wert	FG	Milchdrüsengewicht F-Wert	FG
zwischen Dosen	46,63++	6;112	27,18++	6;112
zw. Geschlechtern	186,99++	1;112	215,24++	1;112
zw. Behandlungen	182,98++	1;112	150,92++	1;112
WW D x G	15,85++	6;112	2,74+	6;112
WW D x B	12,32++	6;112	9,09++	6;112
WW G x B	27,83++	1;112	38,53++	1;112
WW D x G x B	8,27++	6;112	6,15++	6;112

\+ = signifikanter Unterschied ($P < 0,05$)
++ = signifikanter Unterschied ($P < 0,01$)
WW = Wechselwirkung
FG = Freiheitsgrad

Abbildung 65

Korrelation zwischen der Variablen Masse DNS/Milchdrüse und dem Milchdrüsengewicht (II. Versuchsserie)

$r = +0{,}7424{+}{+}$ mit 138 FG

Es besteht eine hochsignifikante Korrelation ($P < 0{,}01$) zwischen beiden Variablen (unter Ausschaltung des Einflusses der Behandlung, der Dosis und des Geschlechtes).

DNS-BESTIMMUNG III. VERSUCHSSERIE

DNS-Gehalt der Milchdrüsen III. Versuchsserie

Gruppe	Geschlecht	Gonad-ektomie	Behandlung prä-natal	Behandlung post-natal	Zahl der Tiere	Körper-gewicht x̄±S.E.M.	MDG/Drüse (mg) x̄±S.E.M.	DNS/Drüse (µg) x̄±S.E.M.
1	♀	x			5	553±16	116±12	432± 50
2	♂	x			5	533±12	73± 5	299± 48
3	♀	x	L	Ö+P	5	536±23	153± 5	2588±212
4	♂	x	L	Ö+P	5	568±18	91± 3	774± 70
5	♀	x	C	Ö+P	6	528±27	143± 5	1397± 86
6	♂	x	C	Ö+P	8	546±15	142± 4	1114± 38
7	♀	x	M	Ö+P	7	463±11	129± 7	1284±106
8	♂	x	M	Ö+P	10	498± 8	93± 4	788± 87

C = Cyproteronacetat
L = Lösungsmittel
M = Methyltestosteron
Ö+P = Östron und Progesteron
MDG = Milchdrüsentrockengewicht (Gewicht nach der Wasser- und Fettextraktion)

Abbildung 66

Die Bestimmung des DNS-Gehaltes der Milchdrüsen zeigt eindrucksvoll den Einfluß der während der Embryonalentwicklung verabreichten Hormone. Während bei den unbehandelten Kontrolltieren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten sind (s. auch "whole mounts" und DNS-Bestimmung Abbildungen 58, 11, 13), zeigen die mit Östron und Progesteron behandelten Kontrollgruppen eine geschlechtsabhängige Differenz im Grad der Milchdrüsenentwicklung.
Die Werte der weiblichen Tiere sind etwa um 230 % höher im Vergleich zu denen der männlichen Gruppe. Vom 25. bis 40. Tag der Schwangerschaft verabreichtes Cyproteronacetat hat bei weiblichen Tieren eine virilisierende Wirkung auf die experimentell induzierte Milchdrüsenentwicklung. Die DNS-Bestimmung ergab für diese weibliche Gruppe Werte, die im Vergleich zur nur mit Lösungsmittel behandelten weiblichen Gruppe um

85 % erniedrigt sind. Im Vergleich zur unbehandelten männlichen Kontrollgruppe sind die Werte jedoch signifikant höher. Die männlichen Tiere zeigen nach identischer Behandlung mit Cyproteronacetat einen Milchdrüsenentwicklungsgrad, der über dem unbehandelter männlicher Kontrolltiere liegt. Bei männlichen Meerschweinchen hat Cyproteronacetat eine feminisierende Wirkung auf die quantitative Entwicklung der Milchdrüsen. Die DNS-Werte dieser Tiere sind im Vergleich zur männlichen Kontrollgruppe um 44 % erhöht (Abbildung 67), lassen sich jedoch nicht statistisch abgrenzen (Statistik Seite 69 bis 70).
Methyltestosteron, im gleichen Zeitraum der Embryonalentwicklung appliziert, beeinflußt nur bei weiblichen Tieren die durch Östron/Progesteron bewirkte Milchdrüsenentwicklung. Die Werte dieser weiblichen Gruppe sind jedoch signifikant höher im Vergleich zu unbehandelten männlichen Kontrolltieren. Der Grad der Virilisierung, gemessen an der Milchdrüsenentwicklung, ist nach der Behandlung mit Cyproteronacetat und Methyltestosteron etwa gleich, die DNS-Werte differieren nicht signifikant.
Auf den Grad der Milchdrüsenentwicklung männlicher Tiere hat Methyltestosteron keinen Einfluß. Die DNS-Werte dieser Gruppe stimmen mit denen der männlichen Kontrollgruppe überein.

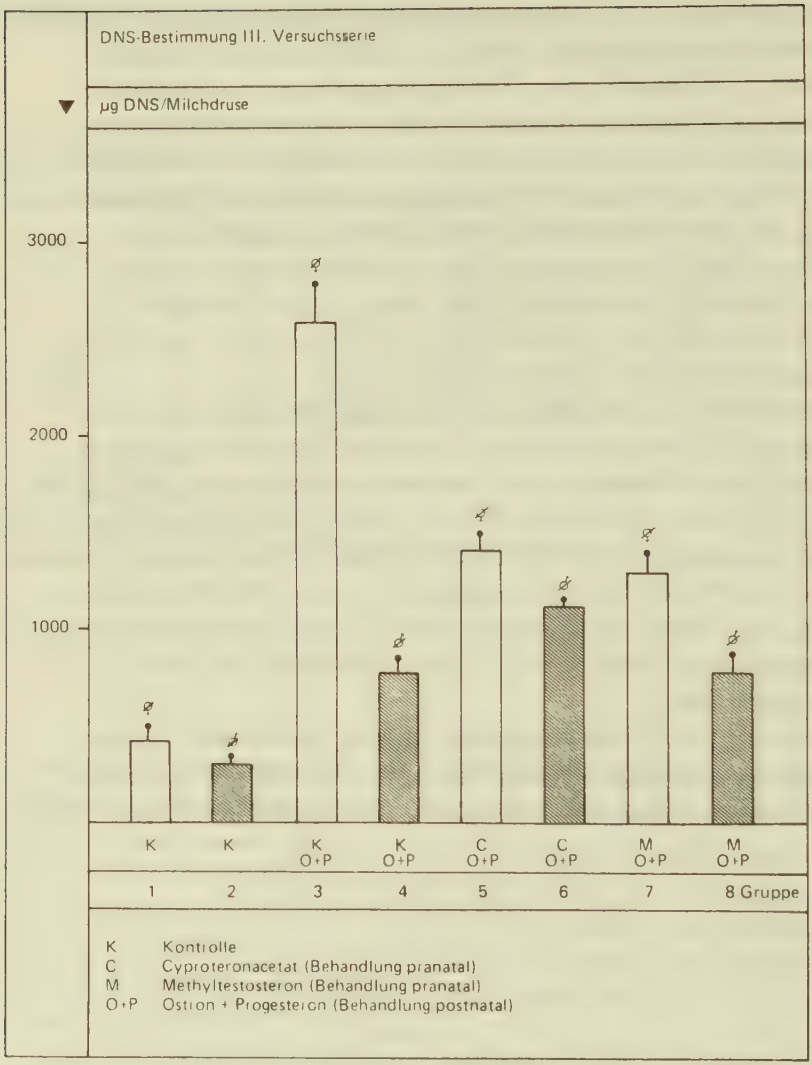


Abbildung 67

Statistische Auswertung der DNS-Bestimmung III. Versuchsserie

Varianzanalyse und Scheffé-Test
Vergleich der Gruppen (Mittelwerte)

1. Weibliche Gruppen

a) Varianzanalyse

Zwischen den Gruppen besteht ein hochsignifikanter Unterschied
($P < 0,01$) $F = 45,17^{++}$ mit 3 und 18 FG
s^2 (Restfehler) = 87247,7

b) Scheffé-Test (Vergleich der Mittelwerte)

Mittelwerte je Gruppe:

Kontrollen ♀	432,38	$\bar{x}_1$
Gruppe I ♀	2587,46	$\bar{x}_2$
Gruppe III ♀	1396,98	$\bar{x}_3$
Gruppe V ♀	1284,04	$\bar{x}_4$

Vergleich		Differenz	
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	=	2155,08	++
$\bar{x}_1 - \bar{x}_3$	=	964,60	++
$\bar{x}_1 - \bar{x}_4$	=	851,66	++
$\bar{x}_2 - \bar{x}_3$	=	1190,48	++
$\bar{x}_2 - \bar{x}_4$	=	1303,42	++
$\bar{x}_3 - \bar{x}_4$	=	112,94	-

++ = hochsignifikanter Unterschied ($P < 0,01$)
\- = kein signifikanter Unterschied ($P > 0,05$)

2. Männliche Gruppen

a) Varianzanalyse

Zwischen den Gruppen besteht ein hochsignifikanter Unterschied
($P < 0,01$) $F = 15,17^{++}$ mit 3 und 24 FG
s^2 (Restfehler) = 44868,8

b) Scheffé-Test (Vergleich der Mittelwerte)

Mittelwerte je Gruppe:

Kontrollen ♂	299,42	$\bar{x}_1$
Gruppe II ♂	774,16	$\bar{x}_2$
Gruppe IV ♂	1113,60	$\bar{x}_3$
Gruppe VI ♂	788,91	$\bar{x}_4$

Vergleich		Differenz	
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	=	474,74	+
$\bar{x}_1 - \bar{x}_3$	=	814,18	++
$\bar{x}_1 - \bar{x}_4$	=	489,49	++
$\bar{x}_2 - \bar{x}_3$	=	339,44	-
$\bar{x}_2 - \bar{x}_4$	=	14,75	-
$\bar{x}_3 - \bar{x}_4$	=	324,69	+

++ = hochsignifikanter Unterschied ($P < 0,01$)
+ = signifikanter Unterschied ($P < 0,05$)
- = kein signifikanter Unterschied ($P > 0,05$)

3.4.1. SAUGWARZENLÄNGENMESSUNG I. VERSUCHSSERIE

Die Ergebnisse der Längenmessung der Saugwarzen lassen sich aus Abbildung 68 ablesen. Fünf Gruppen zeigen eine identische Länge bei einer Meßgenauigkeit von ± 0,5 mm. Fünf weitere Gruppen sind entsprechend dem mehr oder weniger starken Aufbau ihrer inneren Drüsenteile auch in Bezug auf das Saugwarzenwachstum unterschiedlich entwickelt. Innerhalb dieser Gruppen werden die kürzesten Saugwarzen bei den weiblichen unbehandelten Tieren gemessen, gefolgt von den weiblichen kastrierten, mit Östron behandelten Tieren.

Eine Abweichung von den nach anderen Methoden erzielten Ergebnissen ist bei den männlichen kastrierten, mit Östron behandelten Tieren zu erkennen. Eindeutig besser reagieren die Saugwarzen in ihrem Längenwachstum bei gleicher Dosis Östron bei den weiblichen, gleich behandelten Tieren.

Die Gruppen 9 und 10, mit Östron und Progesteron behandelt, bestätigen die Ergebnisse der "whole mount preparation" und der Milchdrüsenhistologie. Ein eindeutiger Geschlechtsunterschied ist zu verzeichnen. Die weiblichen kastrierten, mit Östron und Progesteron behandelten Tiere zeigen auch in der Entwicklung der äußeren Drüsenteile den größten Aufbau.

Saugwarzenlänge I. Versuchsserie						
Gruppe	Geschlecht	Gonad-ektomie	Behand-lung	Zahl der Tiere	Körper-gewicht (g) $\bar{x}$	Saugwarzen-länge (mm) $\bar{x} \pm$ S.E.M.
1	♀			10	600,2	3,70±0,34
2	♂			10	735,1	2,00±0,00
3	♀	x		10	563,1	2,00±0,00
4	♂	x		10	658,7	2,00±0,00
5	♀	x	P	10	730,7	2,00±0,00
6	♂	x	P	10	770,8	2,00±0,00
7	♀	x	Ö	10	498,7	4,25±0,28
8	♂	x	Ö	10	580,0	5,50±0,35
9	♀	x	Ö+P	10	535,1	6,45±0,25
10	♂	x	Ö+P	10	556,7	4,75±0,24
P = Progesteron Ö = Östron						

Abbildung 68

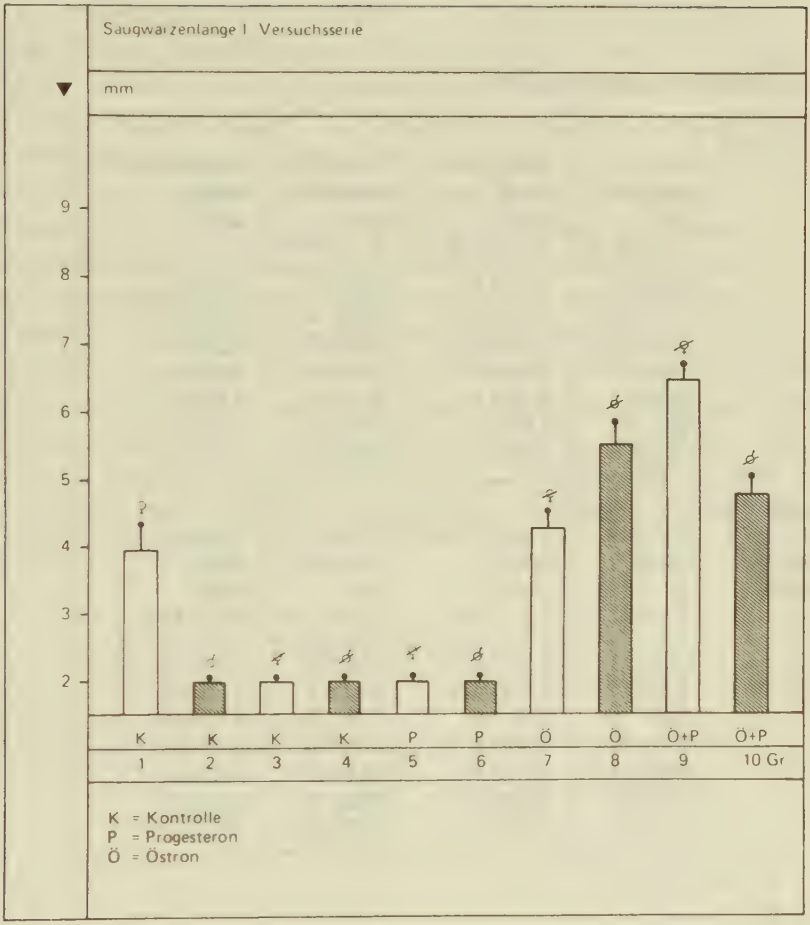


Abbildung 69

SAUGWARZENLÄNGENMESSUNG II. VERSUCHSSERIE

Saugwarzenlänge II. Versuchsserie				
Dosis Östron (µg)	♀ Körpergewicht (g) $\bar{x}$ ± S.E.M.	♀ Saugwarzenlänge (mm) $\bar{x}$ ± S.E.M.	♂ Körpergewicht (g) $\bar{x}$ ± S.E.M.	♂ Saugwarzenlänge (mm) $\bar{x}$ ± S.E.M.
0,1	579±21	3,0±0,6	558±15	2,0±0,0
1	577±23	5,0±0,0	609± 8	6,0±0,5
2,5	612±12	7,4±0,3	580±12	7,2±0,4
5	535±12	7,6±0,3	595±15	7,6±0,4
7,5	529±13	6,2±0,4	607±12	7,8±0,4
10	571±23	6,8±0,4	582±14	7,6±0,3
15	505± 5	5,8±0,4	608± 6	7,2±0,2
Dosis Östron (µg) + 1 mg Progesteron	♀ Körpergewicht (g) $\bar{x}$ ± S.E.M.	♀ Saugwarzenlänge (mm) $\bar{x}$ ± S.E.M.	♂ Körpergewicht (g) $\bar{x}$ ± S.E.M.	♂ Saugwarzenlänge (mm) $\bar{x}$ ± S.E.M.
0,1	602±31	2,0±0,0	565±43	2,0±0,0
1	634±16	3,4±0,3	639± 8	4,0±0,0
2,5	608±16	5,0±0,0	616±22	4,4±0,3
5	576±16	6,6±0,5	578±13	5,0±0,0
7,5	566±22	8,8±0,4	611±16	5,0±0,0
10	572±10	7,4±0,4	569± 6	5,0±0,5
15	569±19	7,6±0,4	602±25	5,0±0,0

Abbildung 70

Nach ausschließlicher Gabe von Östron ist über den gesamten Dosisbereich bei männlichen und weiblichen Meerschweinchen eine weitgehend übereinstimmende Entwicklung der Saugwarzen zu beobachten. Östron mit Progesteron kombiniert, hat jedoch bei den Geschlechtern unterschiedliche Wirkungen auf die Saugwarzenlänge. Nach der 40-tägigen Injektion von 2,5 µg Östron/Tag wird bei weiblichen Tieren ein durchschnittlicher Wert von etwa 7 mm erreicht, während die doppelte Dosis Östron in Kombination mit 1 mg Progesteron erforderlich ist, um dasselbe Längenwachstum bei männlichen Tieren zu induzieren (Abbildung 71).
Die männlichen Tiere zeigen nach der Injektion von 5 µg Östron + 1 mg Progesteron optimales Saugwarzenlängenwachstum. Bei weiterer Erhöhung der Östron-Dosis in Kombination mit 1 mg Progesteron, wird dieser Wert nicht überschritten. Die größte Saugwarzenlänge wurde nach der Injektion von 7,5 µg Östron + 1 mg Progesteron an weiblichen Tieren gemessen. Bei dieser Dosis beträgt der Geschlechtsunterschied nahezu 100 %.

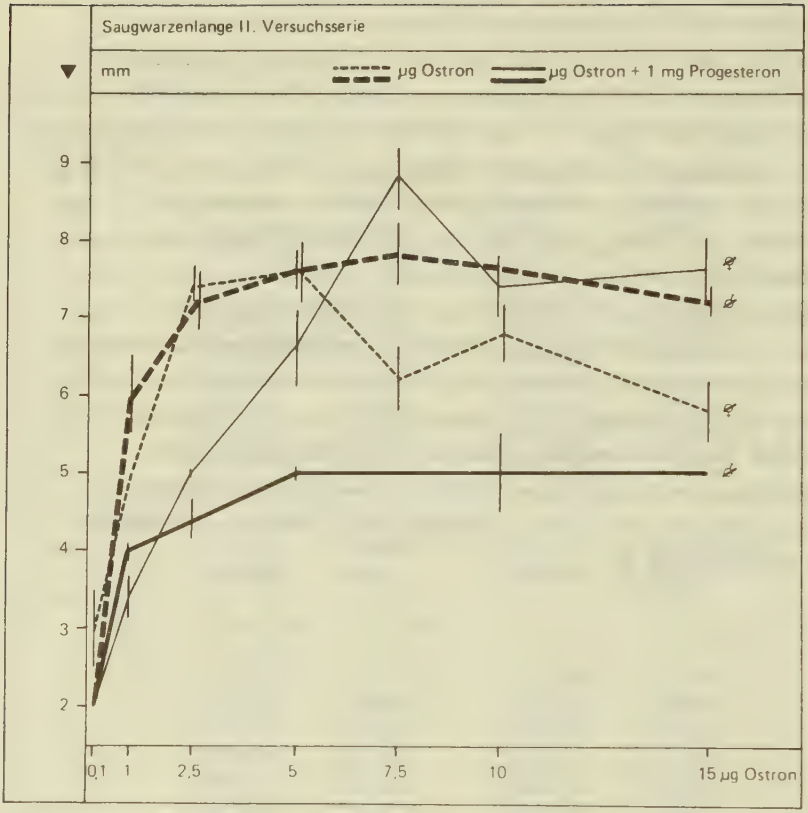


Abbildung 71

SAUGWARZENLÄNGENMESSUNG III. VERSUCHSSERIE

Saugwarzenlänge III. Versuchsserie

Gruppe	Geschlecht	Gonadektomie	Behandlung	Zahl der Tiere	Körpergewicht(g) $\bar{x}$ ± S.E.M.	Saugwarzenlänge (mm) $\bar{x}$ ± S.E.M.
1	♀	x		5	553±16	2,0±0,0
2	♂	x		5	533±12	2,0±0,0
3	♀	x	L Ö+P	5	536±23	7,2±0,3
4	♂	x	L Ö+P	5	568±18	5,0±0,3
5	♀	x	C Ö+P	6	528±27	7,5±0,3
6	♂	x	C Ö+P	8	546±15	5,2±0,2
7	♀	x	M Ö+P	7	463±11	6,4±0,3
8	♂	x	M Ö+P	10	498± 8	4,5±0,2

C = Cyproteronacetat
L = Lösungsmittel
M = Methyltestosteron
Ö+P = Östron und Progesteron

Abbildung 72

Veränderungen des Saugwarzenwachstums sind bei Meerschweinchen nach der Applikation von Cyproteronacetat (25. bis 40. Tag der Embryonalentwicklung) nicht feststellbar. Methyltestosteron hat eine leichte virilisierende Wirkung: Die gemessenen Saugwarzenlängen sind im Vergleich zu den Kontrollgruppen kleiner (Abbildung 73).

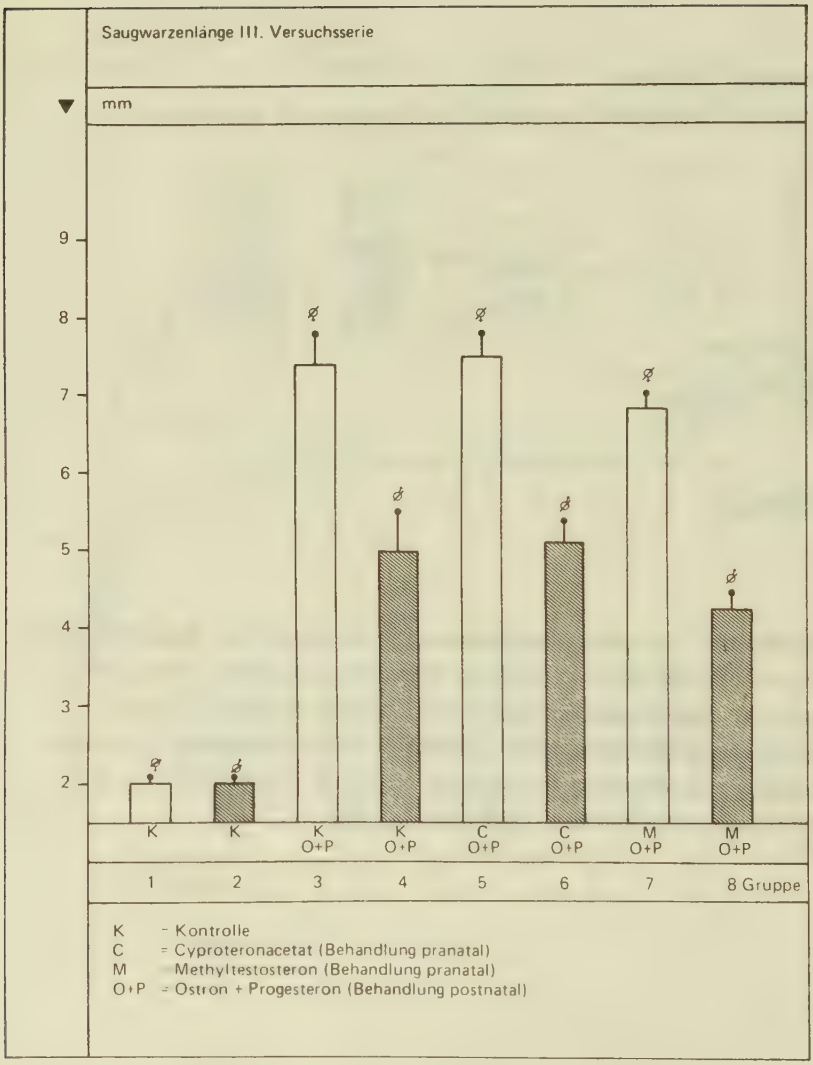


Abbildung 73

3.4.2. SAUGWARZENHISTOLOGIE I. VERSUCHSSERIE

Da die äußeren Teile der Milchdrüsen bei Meerschweinchen leicht durch eine hormonelle Behandlung mit Östrogenen zu beeinflussen sind, wurden die Längenmessung der Nippel und die Saugwarzenhistologie in die Untersuchungen einbezogen.
(LAQUEUR, BORCHARDT, DINGEMANSE und DeJONGH 1928; LYONS und PENCHARZ 1936; DODDS, LAWSON, NOBLE und TORONTO 1938)

Gruppen 1: Weibliche unbehandelte Kontrollen
2: Männliche unbehandelte Kontrollen

Die bereits in der Saugwarzenlängenmessung aufgezeigten Unterschiede bestätigen sich in der histologischen Auswertung. Die Gruppen der mit Östron und der mit Östron und Progesteron behandelten Tiere zeigen eindeutige Veränderungen des inneren Saugwarzenaufbaus (Abbildungen 78 und 79). Signifikante Unterschiede, die sich in der Längenmessung der Saugwarzen normaler unbehandelter weiblicher und männlicher Tiere ergaben, lassen sich im histologischen Aufbau jedoch nicht erklären. Der Nippel ist bei beiden Geschlechtern von einem Kanal durchzogen, der von einem Pflasterepithel ausgekleidet ist und mit dem Gangsystem der Milchdrüse direkt verbunden ist. Die entwicklungsgeschichtlich verschiedenen Abschnitte dieses Kanals, Ductus papillaris (Strichkanal) und Sinus papillaris, sind bei beiden Geschlechtern gut zu unterscheiden (Abbildungen 74 und 75).
Qualitative Unterschiede lassen sich bei männlichen und weiblichen Tieren im histologischen Aufbau der Saugwarzen nicht feststellen. Die unterschiedlichen Ergeb-

nisse der Saugwarzenlängenmessung sind auf ein stärkeres Wachstum bei den weiblichen Tieren zurückzuführen, wobei die innere Struktur histologisch nicht differenzierte.

Gruppen 3: Weibliche kastrierte, unbehandelte Kontrollen
4: Männliche kastrierte, unbehandelte Kontrollen

Die Gruppen der kastrierten Tiere zeigen im Aufbau der Saugwarzen keine signifikanten Unterschiede. Die histologischen Bilder zeigen die gleiche innere Struktur, die bei normalen männlichen Tieren zu beobachten ist (Abbildungen 76 und 77).

Gruppen 5: Weibliche kastrierte, mit Progesteron behandelte Tiere
6: Männliche kastrierte, mit Progesteron behandelte Tiere

Eine histologische Veränderung der Saugwarzen unter Progesteroneinfluß läßt sich nicht feststellen. Die Bilder entsprechen den Ergebnissen der Gruppen 3 und 4 (kastrierte, unbehandelte Tiere).

Gruppen 7: Weibliche kastrierte, mit Östron behandelte Tiere
8: Männliche kastrierte, mit Östron behandelte Tiere

Die Wirkung des Östrons manifestiert sich in einem volumenmäßig vergrößerten Nippel, der ein großes Lumen im Innern bildet. Sekretorisches Gewebe zieht sich bis weit in die Saugwarze hinein. Das auskleidende Epithel ist außerordentlich dick und faltig.

Gruppen 9: Weibliche kastrierte, mit Östron und Progesteron behandelte Tiere

10: Männliche kastrierte, mit Östron und Progesteron behandelte Tiere

Qualitative Unterschiede lassen sich bei beiden Gruppen im Vergleich zu den mit Östron behandelten Tieren nicht beobachten. Die sehr gut entwickelten Nippel sind von lobulo-alveolären Strukturen durchzogen, Ausführgänge sind vorhanden. Das Epithel ist außerordentlich stark entwickelt. Quantitative Unterschiede lassen neben der Längenmessung auch die histologischen Schnitte erkennen. Die Nippel der männlichen Tiere sind volumenmäßig kleiner (Abbildungen 78 und 79).

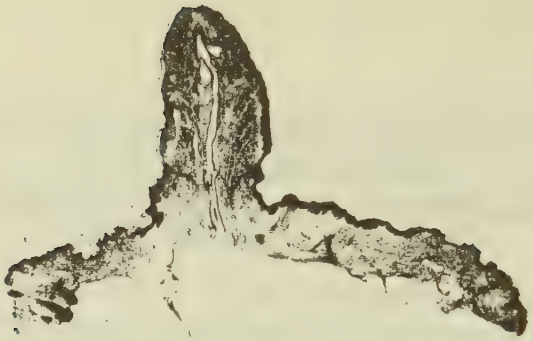


Abbildung 74 ♀ Kontrolle normal

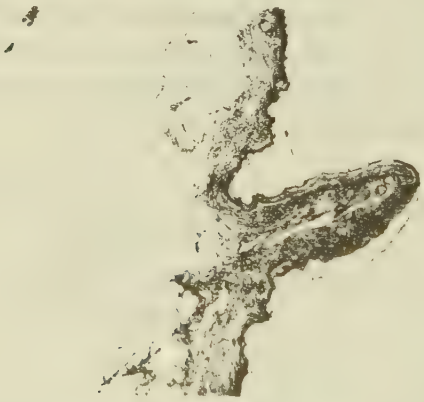


Abbildung 75 ♂ Kontrolle normal

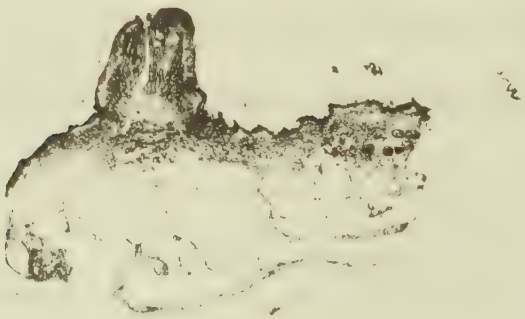


Abbildung 76 ♀ Kontrolle

Abbildung 77 ♂ Kontrolle

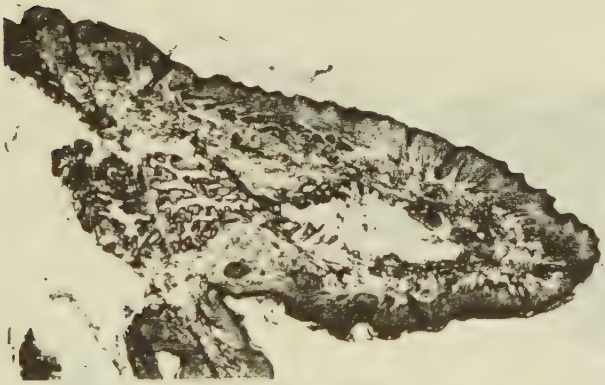


Abbildung 78 ♀ 17 µg Östron + 0.5 mg Progesteron

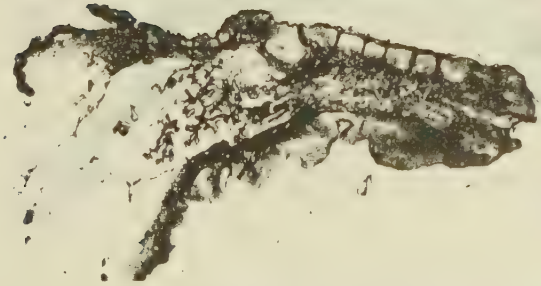


Abbildung 79 ♂ 17 µg Östron + 0.5 mg Progesteron

SAUGWARZENHISTOLOGIE III. VERSUCHSSERIE

Die Saugwarzen von Meerschweinchen, die während der Embryonalentwicklung mit Cyproteronacetat oder Methyltestosteron behandelt wurden, zeigen qualitativ im histologischen Bild keine Veränderungen. Die mikroskopischen Schnitte zeigen die normale Saugwarzenstruktur (Abbildungen 80, 81, 82, 83).

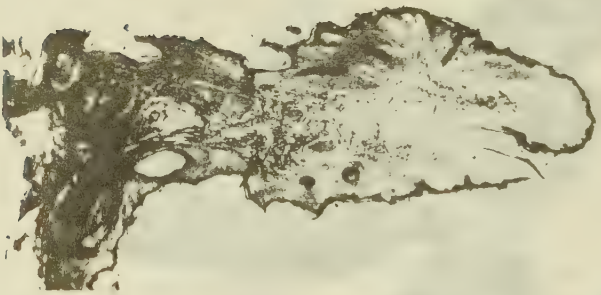


Abbildung 80 ♀ Cyproteronacetat
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

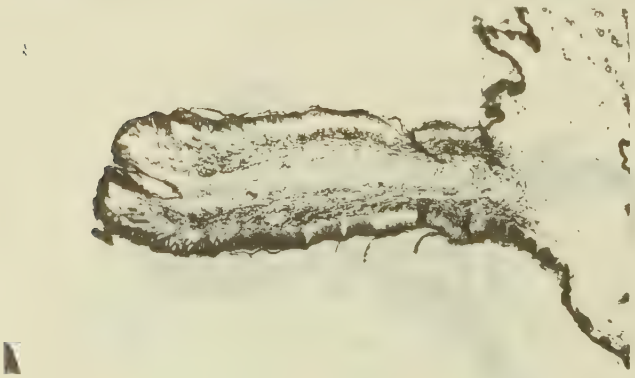


Abbildung 81 ♂ Cyproteronacetat
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

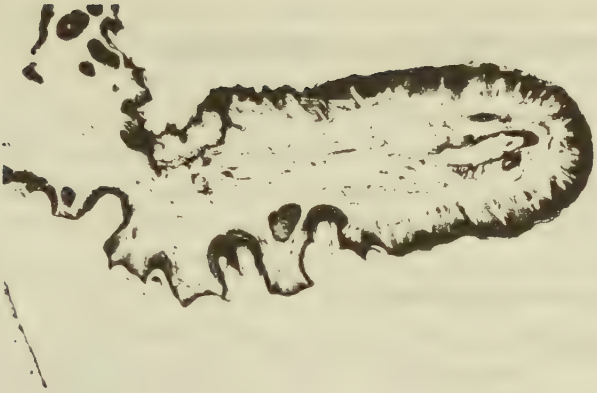


Abbildung 82 ♀ Methyltestosteron
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

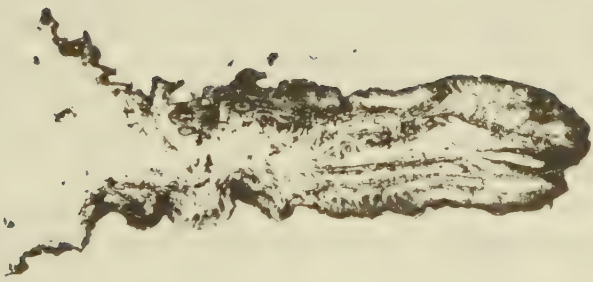


Abbildung 83 ♂ Methyltestosteron
10 µg Östron + 1 mg Progesteron

3.5.1. HYPOPHYSENGEWICHT I. VERSUCHSSERIE

Hypophysengewichte I. Versuchsserie

Gruppe	Geschlecht	Gonad-ektomie	Behand-lung	Zahl der Tiere	Körper-gewicht (g) $\bar{x}$	Hypophysen-gewicht (mg) $\bar{x}$±S.E.M.
1	♀			10	600,2	12,27±0,34
2	♂			10	735,1	14,22±0,50
3	♀	x		10	563,1	11,39±0,19
4	♂	x		10	658,7	14,60±0,45
5	♀	x	P	10	730,7	14,21±0,35
6	♂	x	P	10	770,8	15,23±0,28
7	♀	x	Ö	10	498,7	15,78±0,35
8	♂	x	Ö	10	580,0	19,42±0,44
9	♀	x	Ö+P	10	535,1	22,02±1,03
10	♂	x	Ö+P	10	556,7	16,67±0,75

P = Progesteron
Ö = Östron

Abbildung 84

Die Graphik, Abbildung 85, läßt deutlich die Gewichtszunahme der Hypophysen der Gruppen erkennen, die nach den Ergebnissen der "whole mount preparation", der Milchdrüsenhistologie und der DNS-Bestimmung die stärkste Milchdrüsenentwicklung zeigen. Die Werte der Gruppen 7, 8, 9 und 10 sind höher als die der Kontrollgruppen und der mit Progesteron behandelten Tiere. Die Gruppe der männlichen kastrierten Kontrollen zeigt nur eine geringe Erhöhung gegenüber den Kontrollgruppen und der Gruppe der weiblichen kastrierten, unbehandelten Tiere. Es kann davon ausgegangen werden, daß die Hypophysen der Gruppen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 gewichtsmäßig keine Veränderung erfahren haben. Die mit Östron behandelten weiblichen und männlichen Tiere sowie die mit Östron und Progesteron behandelten weiblichen und männlichen Gruppen zeigten Hypophysengewichte, die im Vergleich zu den Kontrollgruppen deutlich erhöht sind.

Die größte Hypophysen-Gewichtszunahme konnte bei der weiblichen kastrierten, mit Östron und Progesteron behandelten Gruppe festgestellt werden. Die Werte dieser Gruppe liegen ca. 50 % höher im Vergleich zu den männlichen und weiblichen Kontrollen. Der Geschlechtsunterschied, der sich im Grad des Milchdrüsenaufbaus bei den Gruppen 9 und 10 bemerkbar machte, ist auch aus den Hypophysengewichten dieser Tiere ersichtlich. Die weiblichen kastrierten, mit Östron und Progesteron behandelten Tiere zeigen Hypophysengewichte, die um ca. 25 % über denen der gleich behandelten männlichen Gruppe liegen.

Die mit Östron behandelten Gruppen weisen in den Hypophysengewichten keine Unterschiede auf.

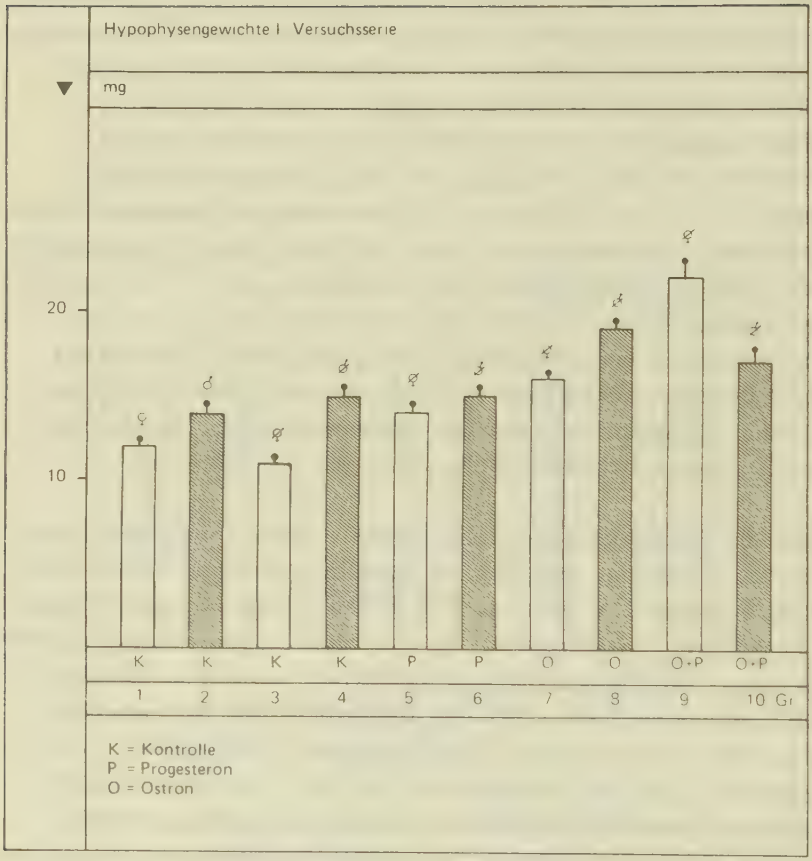


Abbildung 85

HYPOPHYSENGEWICHTE III. VERSUCHSSERIE

Hypophysengewichte III. Versuchsserie

Gruppe	Geschlecht	Gonadektomie	Behandlung prä-natal	Behandlung post-natal	Zahl der Tiere	Körpergewicht $\bar{x}$ ± S.E.M.	Hypophysengewicht (mg) $\bar{x}$ ± S.E.M.
1	♀	x			5	553±16	12,3±0,5
2	♂	x			5	533±12	10,0±0,6
3	♀	x	L	Ö+P	5	536±23	19,7±1,0
4	♂	x	L	Ö+P	5	568±18	16,8±0,6
5	♀	x	C	Ö+P	6	528±27	19,0±0,3
6	♂	x	C	Ö+P	8	546±15	16,6±0,6
7	♀	x	M	Ö+P	7	463±11	17,5±0,6
8	♂	x	M	Ö+P	10	498± 8	14,2±0,5

C = Cyproteronacetat
L = Lösungsmittel
M = Methyltestosteron
Ö+P = Östron und Progesteron

Abbildung 86

Veränderungen der Hypophysengewichte lassen sich nach der Behandlung mit Cyproteronacetat (25. bis 40. Tag der Embryonalentwicklung) nicht feststellen. Methyltestosteron, während dieser Zeit appliziert, bewirkt eine Abnahme der Hypophysengewichte (Abbildung 87).

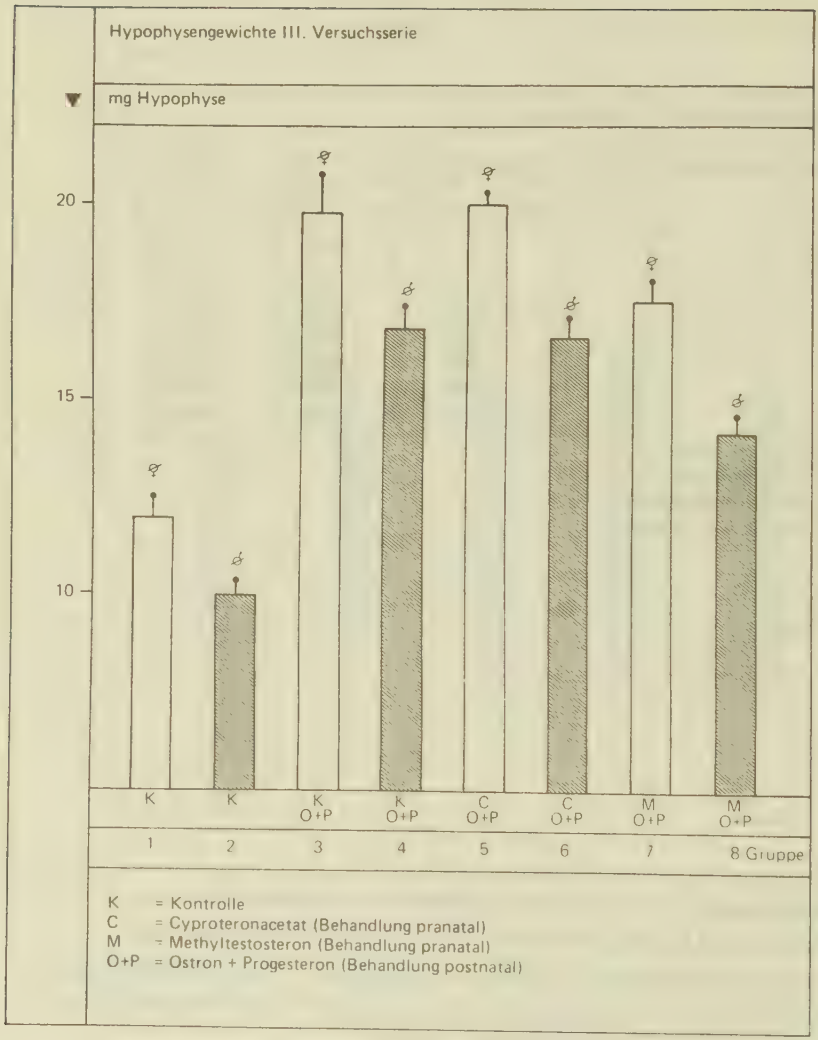


Abbildung 87

3.5.2. HYPOPHYSENHISTOLOGIE I. VERSUCHSSERIE

Immunhistochemische Untersuchungen an Ratten zeigten, daß Prolactin höchstwahrscheinlich in einem bestimmten Typ azidophiler Zellen der Adenohypophyse gebildet wird (EMMART, SPICER und BATES 1963; EMMART, BATES und TURNER 1965). Der zweite Typ azidophiler Zellen produziert offenbar somatotropes Hormon. Die in dieser Untersuchung angewandte Färbetechnik erlaubt die Unterscheidung zwischen den sogenannten lactotropen und den somatotropen Zellen.
Die Zelltypen des Hypophysenvorderlappens färben sich wie folgt an:

lactotrope Zellen	rot
somatotrope Zellen	orange
basophile Zellen	blau-grün
Erythrozyten	rot

Die histologische Auswertung der Hypophysen der einzelnen Versuchsgruppen ergab signifikante Veränderungen der zahlenmäßigen Verhältnisse der Zelltypen zueinander. Die normalen unbehandelten Kontrollen, die kastrierten mit Östron behandelten Tiere und die kastrierten mit Östron und Progesteron behandelten Gruppen zeigen in den histologischen Bildern eine große Zahl lactotroper Zellen. Die Hypophysengewichte der mit Östron und der mit der Kombination Östron/Progesteron behandelten Tiere waren signifikant erhöht. Die histologische Auswertung ergab bei diesen Gruppen eindeutig bei beiden Geschlechtern eine starke Vermehrung der lactotropen Zellen. Die charakteristische Struktur lactotroper Zellen ist in den Abbildungen 94, 95, 96 und 97 gut erkennbar. Diese Zellen sind rechteckig und reihen sich palisadenartig um Blutgefäße. Abbildung 96 zeigt die

größte Anzahl lactotroper Zellen im Vergleich zu den anderen Gruppen. Diese Gruppe, die die größte Gewichtszunahme der Hypophysen im Vergleich zu allen anderen Gruppen zeigt, unterscheidet sich also auch in der Hypophysenhistologie deutlich. Die festgestellten Gewichtszunahmen der Gruppen, die mit Östron oder mit der Kombination Östron/Progesteron behandelt wurden, sind höchstwahrscheinlich auf die starke Vermehrung der lactotropen Zellen zurückzuführen. Geschlechtsunterschiede lassen sich auch in der Anzahl der lactotropen Zellen der mit Östron und Progesteron behandelten Gruppen erkennen. Die Hypophysen der männlichen Tiere enthalten weniger lactotrope Zellen als die der gleich behandelten weiblichen Tiere. Die signifikant höheren Hypophysengewichte der mit Östron/Progesteron behandelten weiblichen Tiere weisen auch hier auf einen Zusammenhang zwischen der Hypophysengewichtserhöhung und der Zunahme der Anzahl lactotroper Zellen hin.
Kastration bewirkt offenbar bei beiden Geschlechtern eine Reduzierung der Anzahl lactotroper Zellen (Abbildungen 90 und 91). Die Verabreichung von Progesteron hat keine Vermehrung lactotroper Zellen zur Folge (Abbildungen 92 und 93).

Gruppen 1: Weibliche, unbehandelte Tiere
2: Männliche, unbehandelte Tiere

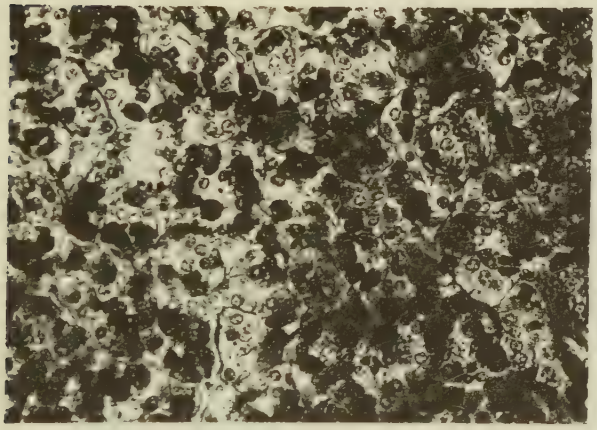


Abbildung 88 ♀ Kontrolle normal

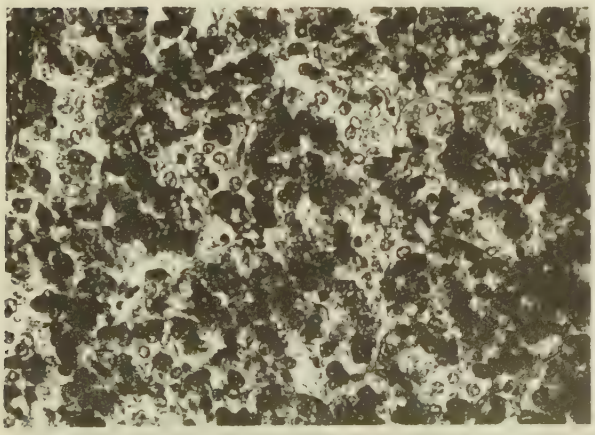


Abbildung 89 ♂ Kontrolle normal

Gruppen 3: Weibliche kastrierte, unbehandelte Tiere
4: Männliche kastrierte, unbehandelte Tiere

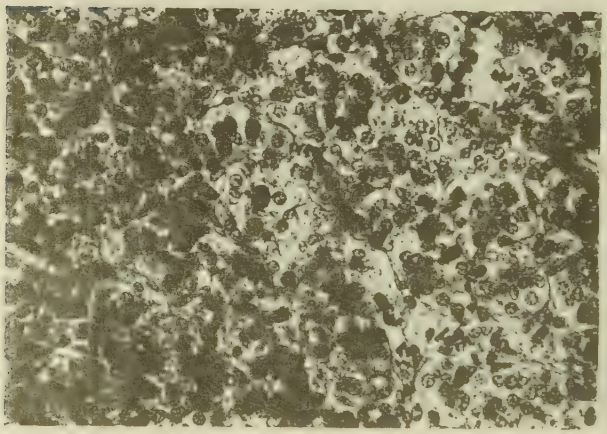


Abbildung 90 ♀ Kontrolle

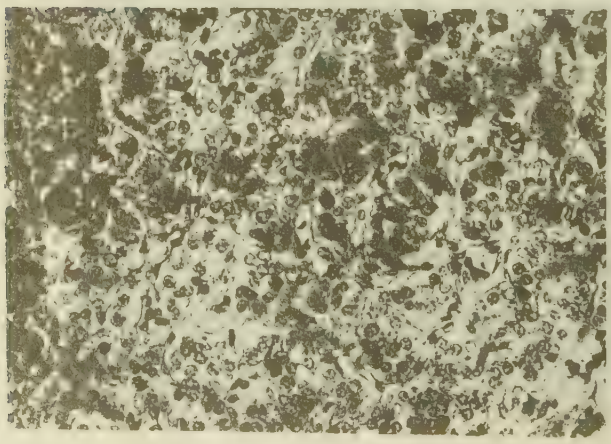


Abbildung 91 ♂ Kontrolle

Gruppen 5: Weibliche kastrierte, mit Progesteron behandelte Tiere

6: Männliche kastrierte, mit Progesteron behandelte Tiere

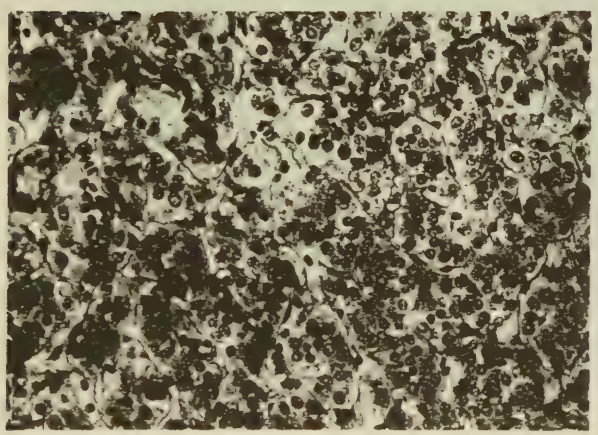


Abbildung 92 ♀ Progesteron

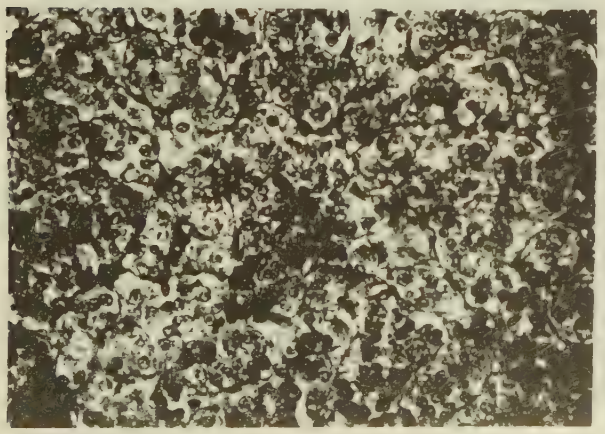


Abbildung 93 ♂ Progesteron

Gruppen 7: Weibliche kastrierte, mit Östron behandelte Tiere

8: Männliche kastrierte, mit Östron behandelte Tiere

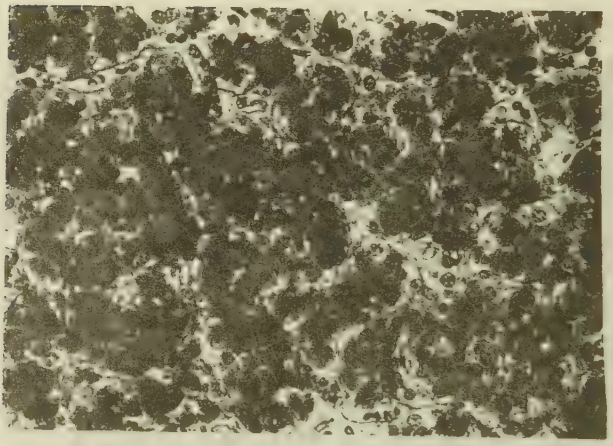


Abbildung 94 ♀ Östron

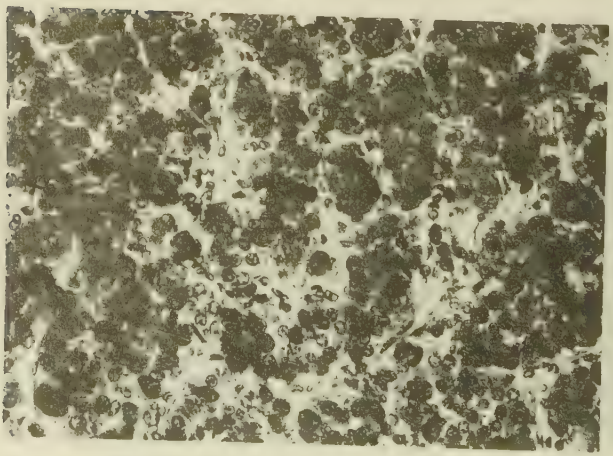


Abbildung 95 ♂ Östron

Gruppe 9: Weibliche kastrierte, mit Östron und Progesteron behandelte Tiere

10: Männliche kastrierte, mit Östron und Progesteron behandelte Tiere

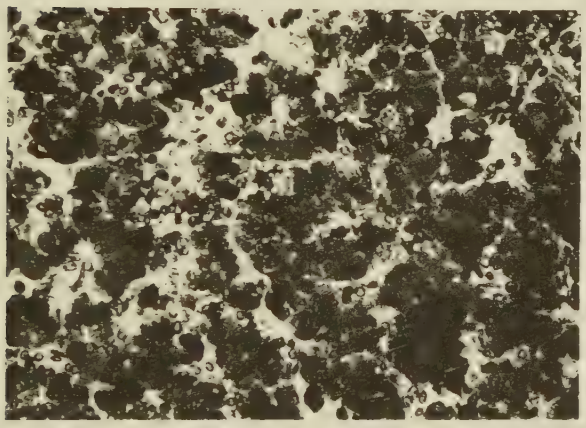


Abbildung 96 ♀ Östron + Progesteron

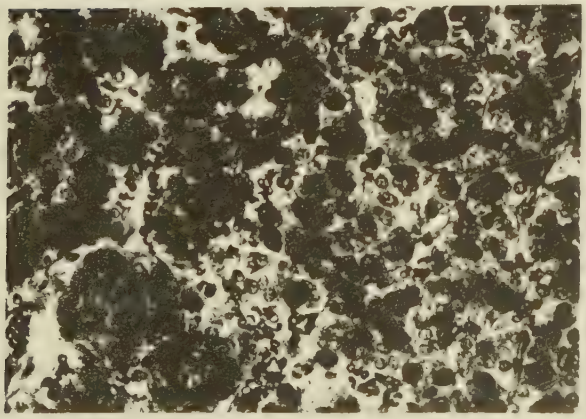


Abbildung 97 ♂ Östron + Progesteron

IV. DISKUSSION

4.1. BEGRÜNDUNG DES VERSUCHSMODELLS

Unter der Voraussetzung der gleichen qualitativen Reaktion der Milchdrüsen beider Geschlechter wurden ältere Untersuchungen, die eine hormonelle Stimulierung zum Ziel hatten, oft an männlichen Tieren durchgeführt. Für das Meerschweinchen wurde sogar angenommen, daß die Milchdrüsen keinen somatischen Geschlechtsdimorphismus aufweisen, folglich auf die Einwirkung von Östrogenen völlig gleich reagieren (SMELSER 1933).

In der zuletzt genannten Arbeit kam der Autor zu dem interessanten Schluß, daß die Wirkung der sezernierten und auch der injizierten Sexualhormone nicht direkt die Milchdrüse stimulieren, sondern auf das "Gonaden-Hypophysen-System" Einfluß nehmen. Einen Antagonismus zwischen Östrogenen und Testosteron, der sich im Aufbau der Mamma auswirken könnte, schloß man aus: die "physiologische Kapazität" der Hypophyse differiert bei den Geschlechtern. Diese Folgerung wurde mit einer möglichen genetisch bedingten Differenz begründet.

Versuche mit hypophysektomierten männlichen und weiblichen Meerschweinchen zeigten, daß ohne den hypophysären Einfluß, auch bei der Injektion von Östrogenen und Progesteron, getrennt oder kombiniert, kein lobuloalveolärer Milchdrüsenaufbau zu erreichen ist (GOMEZ und TURNER 1936). Die Saugwarzen waren jedoch bei hypophysektomierten, mit Östrogenen behandelten Tieren gut entwickelt, ein Hinweis auf den direkten Einfluß der Östrogene. GOMEZ konnte 1942 an hypophysektomierten, ovarektomierten Meerschweinchen die direkte Milchdrüsen-

stimulierende Wirkung von Hypophysentransplantaten und Hypophysenextrakten in Kombination mit Östrogenen, Progesteron und Desoxycorticosteron nachweisen.

Die Hypophyse einer männlichen Ratte, die mit Östrogenen behandelt wurde, auf ein männliches hypophysektomiertes Meerschweinchen transplantiert, sezerniert lactotropes Hormon, das die Milchdrüsen und Nippel des Meerschweinchens zu einer guten Entwicklung bringt (GOMEZ, TURNER und REECE 1937).
Die Existenz und Wechselwirkung der Sekretion eines hypophysären Milchdrüsen-stimulierenden Faktors mit Östrogenen ist damit auch für das Meerschweinchen bewiesen.

Dieser Faktor, das Prolactin, wurde bei anderen Spezies (Ratte, Maus, Kaninchen) als das wichtigste mammotrope Hormon identifiziert.
(REECE und LEONHARD 1939, 1942; LYONS, SIMPSON und EVANS 1942; LYONS 1943, 1958; NELSON 1950, 1952; LYONS, LI und COLE 1953; LYONS, LI und JOHNSON 1956, 1958; FLUX 1958)

Die Kontrolle der Prolactinsekretion unterliegt dem vom Hypothalamus gebildeten Prolactin-Inhibiting-Factor, PIF (Literatur s. Seite 9).

Die Erläuterung der Achse Hypothalamus-Hypophyse führt auf das für diese Arbeit vorrangige Problem der geschlechtsunterschiedlichen Reaktion der Mamma auf eine Sexualhormonbehandlung.

Sind Unterschiede im Grad des Milchdrüsenaufbaus bei den Geschlechtern erkennbar, so sind die Gründe entweder in einer Differenz der Quantität des vor der Hormonbehandlung vorhandenen Drüsengewebes zu suchen oder in einer unterschiedlichen Prolactinsekretionsrate. Nach experimentellen Befunden

bei der Ratte ist die Ursache für eine unterschiedliche Milchdrüsengewebsreaktion auf eine Östrogen/Progesteron-Behandlung in einer bei den Geschlechtern differierenden Reaktion des Hypothalamus-Hypophyse-Systems zu suchen (v. HASSELBACH 1970).

Die geschlechtsspezifische Differenzierung neuraler Zentren, die der Regulation von Sexualfunktionen zugeordnet werden, ist nach den Ergebnissen vieler Untersuchungen androgenabhängig. Zu diesen Sexualfunktionen sind die Gonadotropinsekretion, die Differenzierung der Gonaden und das Sexualverhalten zu rechnen. Es konnte festgestellt werden, daß grundsätzlich der weibliche Funktionstyp bei Abwesenheit fetaler Androgene während der Differenzierungsphase des Hypothalamus entsteht. Werden Androgene während des entscheidenden Zeitraumes der Embryonalentwicklung appliziert, zeigen weibliche Tiere keine zyklische Gonadotropinsekretion, die Genitalorgane sind virilisiert, das weibliche Sexualverhalten reduziert (BARRACLOUGH 1961; BARRACLOUGH und GORSKI 1961, 1962; HARRIS 1963, 1964; NEUMANN und ELGER 1965; NEUMANN, ELGER und v.BERSWORDT-WALLRABE 1967; NEUMANN, HAHN und KRAMER 1967).

Der Einfluß des Gestagens Cyproteronacetat auf die Sexualdifferenzierung wurde an verschiedenen Spezies untersucht (NEUMANN und HAMADA 1963; HAMADA, NEUMANN und JUNKMANN 1963; NEUMANN, RICHTER und GÜNZEL 1965; NEUMANN, ELGER und KRAMER 1966; NEUMANN, ELGER und STEINBECK 1970; ELGER 1966; ELGER, NEUMANN, STEINBECK und HAHN 1970; ELGER, STEINBECK, CUPCEANCU und NEUMANN 1970; STEINBECK, NEUMANN und ELGER 1970; GRÄF und NEUMANN 1972; GRÄF, KLEINECKE und NEUMANN 1974).
Es zeigte sich, daß offenbar die Wirkung der vom männlichen Feten gebildeten Androgene durch Cyproteronacetat-Behandlung der Muttertiere aufgehoben wird. Die Genitalorgane der genetisch männlichen Feten waren stark feminisiert (Ratte, Maus,

Kaninchen). Auch an Meerschweinchen konnte die feminisierende Wirkung des Cyproteronacetats auf die Differenzierung der Genitalorgane bewiesen werden (GRÄF, KLEINECKE und NEUMANN 1974).
In einer weiteren Arbeit (ETZEL, SCHENCK und NEUMANN 1974) wurde festgestellt, daß auch das normale Sexualverhalten männlicher Meerschweinchen durch Cyproteronacetat verändert werden konnte. Nach der Behandlung gravider Meerschweinchen vom 30. bis 45. Tag der Gravidität konnte bei 73 % der männlichen Nachkommen kein männliches Sexualverhalten mehr beobachtet werden. Die Tiere zeigten häufiger weibliches Sexualverhalten.
Die Differenzierung der Genitalorgane und des Sexualverhaltens von Meerschweinchen war optimal während des 30. bis 35. Tages der Embryonalentwicklung beeinflußbar. In dieser Phase differenzieren sich die hypothalamischen Zentren, die durch Neurosekretion die Sexualfunktionen steuern. Zu diesen Sekreten ist neben den Releasing-Factors für FSH und LH der Prolactin-Inhibiting-Factor zu zählen.

Um den Grad der Milchdrüsenentwicklung an weiblichen und männlichen Meerschweinchen vergleichend zu untersuchen, wurden die Tiere mit Östron und Progesteron bzw. der Kombination behandelt. Die Applikation dieser Hormone hatte die Stimulierung der Milchdrüsen zum Ziel. Die Tiere wurden vor der Pubertät gonadektomiert, um den Einfluß endogener Sexualhormone auszuschalten. Ferner wurde bei unbehandelten, vor der Pubertät gonadektomierten weiblichen und männlichen Tieren der Milchdrüsenentwicklungsgrad untersucht, um möglicherweise vorhandene Unterschiede in den Milchdrüsenanlagen aufzufinden.
Die Hypophysen wurden histologisch untersucht. Die Anzahl der histologisch darstellbaren lactotropen Zellen gibt Hinweise auf den funktionellen Status der Hypophysen.

Die Entwicklung der Milchdrüsen wurde ferner an männlichen und weiblichen Meerschweinchen in Abhängigkeit von der Hormondosis (Östron, Progesteron) untersucht, um eine Überstimulierung der Milchdrüsen auszuschließen und um die Dosis zu bestimmen, bei der ein maximaler Geschlechtsunterschied zu beobachten ist.
Die letzte Versuchsserie soll kären, ob der Grad der Milchdrüsenentwicklung bei Meerschweinchen durch fetale Androgene beeinflußt wird. Gravide Tiere wurden mit einem Androgen (Methyltestosteron) bzw. Antiandrogen (Cyproteronacetat) während der Differenzierungsphase des Hypothalamus behandelt. Die Jungtiere wurden mit einer Östron/Progesteron Kombination behandelt, um den Entwicklungsgrad der Milchdrüsen bestimmen zu können. Wenn Androgene die neuralen Zentren, die die Prolactinsekretion regulieren, in der Differenzierungsphase des Hypothalamus "prägend" beeinflussen, so müßte sich der Entwicklungsgrad der Milchdrüsen entsprechend behandelter Tiere verändern. Nach der Ausschaltung fetaler Androgene in der Differenzierungsphase (durch Antiandrogen) ist ebenfalls eine Veränderung der Milchdrüsengewebsentwicklung zu erwarten.

4.2. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Untersuchungen haben eindeutig einen Unterschied im Grad der Milchdrüsenentwicklung zwischen gonadektomierten, mit Östron und mit der Kombination Östron/Progesteron behandelten männlichen und weiblichen Meerschweinchen ergeben. Das sekretorische Gewebe der männlichen Mamma ist unter völlig identischen Versuchsbedingungen über einen Dosisbereich von 1 bis 15 µg Östron (auch in Kombination mit Progesteron) signifikant geringer entwickelt (DNS-Bestimmung II. Versuchsserie).
Die synergistische Wirkung von Östron und Progesteron wird bewiesen durch die im Vergleich zu den mit Östron behandelten Tieren signifikant stärkere Milchdrüsenentwicklung bei den Gruppen, die mit einer wesentlich niedrigeren Dosis Östron, jedoch kombiniert mit Progesteron behandelt wurden. Mit Progesteron allein ist kein lobulo-alveolärer Aufbau der Mamma zu erreichen (Gruppen 5 und 6 I. Versuchsserie).

Die für die Gruppen der kastrierten, mit Östron behandelten männlichen und weiblichen Tiere gewählte Dosis von 30 µg (I. Versuchsserie) liegt nach Ergebnissen von BENSON, COWIE, COX und GOLDZVEIG (1957) im für die Milchdrüsenentwicklung optimalen Bereich. Es konnte bei den Geschlechtern kein quantitativer Unterschied im Aufbau der Drüsen festgestellt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit der von SMITH und RICHTERICH (1958) erwähnten Beobachtung überein: Erst bei niedrigen Dosen Östradiol (kein Progesteron) zeigt sich, daß die Mamma weiblicher Meerschweinchen empfindlicher reagiert als die männlicher Tiere.
Bis zu einer Dosis von maximal 15 µg Östron ist die geschlechtsunterschiedliche Reaktion der Milchdrüsen

signifikant (II. Versuchsserie). Bei 30 µg Östron ist kein Unterschied feststellbar (I. Versuchsserie). Es zeigte sich also auch in dieser Arbeit, daß nur bei kleinen Dosen Östron signifikante Geschlechtsunterschiede zu beobachten sind. Wesentlich größere Bedeutung hat bei Meerschweinchen offensichtlich das Progesteron für die normale Entwicklung der Mamma. Nach einer Behandlung mit 7,5 µg Östron + 1 mg Progesteron sind die Milchdrüsen weiblicher Tiere um 180 % stärker entwickelt als die der männlichen Tiere. Im Vergleich zur Östronbehandlung (kein Progesteron) sind die DNS-Werte um 120 % nach der Kombinationsbehandlung mit Östron und Progesteron bei den weiblichen Tieren höher. Obwohl bereits mit der Östronapplikation die Entwicklung von Milchgängen und Alveolen induziert werden konnte (im Gegensatz zur Ratte), ist die Wirkung des Progesterons bei Meerschweinchen außerordentlich groß: Die zusätzliche Gabe von 1 mg Progesteron bewirkte bei allen Dosen Östron signifikant stärkere Milchdrüsenentwicklung, bei weiblichen Tieren war bei Dosen von 10 und 15 µg Östron in Kombination mit 1 mg Progesteron Sekret in den Alveolen erkennbar (Histologie, Abbildungen 47 und 48). Nach Injektion von 10 und 15 µg Östron in Kombination mit 1 mg Progesteron ist jedoch gleichzeitig eine die Entwicklung der Drüsen hemmende Wirkung zu erkennen (Abbildung 66). Diese hohen Dosen Östron in Kombination mit Progesteron bewirken offenbar die Transformation von der Phase des Wachstums zur funktionellen Phase der Sekretion.
Vergleicht man die Progesteronwirkung in Kombination mit Östron bei den Geschlechtern, so läßt sich eindeutig feststellen, daß bei weiblichen und männlichen Tieren signifikant stärker entwickelte Drüsen als nach ausschließlicher Gabe von Östron zu beobachten sind und daß auch der Geschlechtsunterschied wesentlich größer ist.

Die Ergebnisse der "whole mount preparation", der Milchdrüsenhistologie und des Saugwarzenwachstums stimmen, soweit

sie eine semiquantitative Auswertung zulassen, mit den Werten der DNS-Bestimmung überein. Die Gruppen der kastrierten, unbehandelten Kontrollen weisen keinen signifikanten Unterschied im Milchdrüsenaufbau auf. Es ist also anzunehmen, daß das bei beiden Geschlechtern vorhandene target-Gewebe für mammotropes Hormon quantitativ gleich entwickelt ist. Die "whole mounts" zeigen auch qualitativ keine Unterschiede.

Die "whole mounts" der normalen weiblichen, unbehandelten Kontrollen zeigen den mäßigen lobulo-alveolären Aufbau, der während der normalen Zyklen zu beobachten ist (TURNER und GOMEZ 1933). Unterschiede innerhalb dieser Gruppe, die sich bei dieser Untersuchung nur bei den "whole mounts" erkennen lassen, sind auf den während der Zyklusstadien unterschiedlichen Grad der Proliferation zurückzuführen (LOEB und HESSELBERG 1917). Im Vergleich zu den normalen, unbehandelten männlichen Tieren ist die DNS-Menge höher (Signifikanz auf dem 5 % - Niveau). Erstaunlich ist, daß das Gangsystem der männlichen Milchdrüse im Vergleich zu anderen Spezies gut ausgebildet ist (RICHARDSON 1951, 1953; TURNER und GOMEZ 1934).

Die Bestimmung des Saugwarzenwachstums ist ein Parameter für Östrogenwirkungen an der Milchdrüse (GOMEZ und TURNER 1936; SMELSER 1933; FOLLEY, SCOTT, WATSON und BOTTOMLEY 1940; MUNFORD 1964). Die Gruppen der mit Progesteron behandelten Tiere zeigen folglich kein Saugwarzenwachstum und keine histologischen Veränderungen der Nippel. Die normalen männlichen, unbehandelten Tiere stimmen mit diesen Gruppen überein: Gleiche Länge und keine histologisch erkennbare Entwicklung zum aktiven Typ.

Gut erkennbares Wachstum der Nippel ist bei den normalen, unbehandelten weiblichen Tieren und bei den mit Östron und der Kombination Östron/Progesteron behandelten Tieren zu

beobachten. Bei den normalen weiblichen Tieren beschränkt sich allerdings die Entwicklung der Saugwarzen auf die größere Länge, die Ausdehnung des Lumens ist gering und Drüsengewebe ist nicht vorhanden. Der Unterschied zwischen männlichen und weiblichen mit Östron behandelten Tieren ist auf den Gewichtsunterschied dieser Gruppen zurückzuführen (Saugwarzenlängenmessung wurde nicht auf das Tiergewicht bezogen). Signifikante Geschlechtsunterschiede zeigen auch in der Nippellänge und im inneren Aufbau der Saugwarzen die Gruppen der männlichen und weiblichen mit Östron und Progesteron behandelten Tiere. Nach ausschließlicher Behandlung mit Östron ist bei männlichen und weiblichen Tieren das Saugwarzenwachstum jedoch etwa gleich. Die zusätzliche Gabe von Progesteron hat bei beiden Geschlechtern eine hemmende Wirkung auf die Entwicklung der Nippel (Versuchsserie II, Abbildung 72). Bei weiblichen Tieren kommt diese Hemmung jedoch nur im unteren Dosisbereich von 0,1 bis 5 µg Östron + 1 mg Progesteron zum Tragen. Bei männlichen mit Hormonkombinationen behandelten Tieren war bereits mit 5 µg Östron maximales Nippelwachstum zu erzielen. Progesteron hat offenbar bei Meerschweinchen geschlechtsabhängige Wirkungen auf das Wachstum der Saugwarzen. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu der Annahme, daß das Wachstum der äußeren Drüsenteile ausschließlich einer direkten Östrogenwirkung unterliegt. Da die gemessenen Längen der Nippel der kastrierten männlichen und der kastrierten weiblichen Tiere gleich sind, ist anzunehmen, daß unter physiologischen Bedingungen auch zur vollständigen Saugwarzenentwicklung andere Faktoren, eventuell Prolactin, benötigt werden.

Wie die histologische Auswertung der Gruppen, die mit Östron oder Östron/Progesteron behandelt wurden, bewies, erstreckt sich das sekretorische Gewebe der Milchdrüsen bis in das Lumen der Saugwarzen. Der Einfluß des Progesterons auf das Saugwarzenwachstum ließe sich demnach auf das vermehrt im

Lumen gebildete Drüsengewebe zurückführen. Die synergistische Wirkung des Progesterons wirkt sich indirekt auf ein vergrößertes Lumen und eine größere Länge der Nippel aus.

Die Ergebnisse von BENSON, COWIE, COX und GOLDZVEIG (1957) sowie SMITH und RICHTERICH (1956, 1958) konnten auch für männliche Meerschweinchen bestätigt werden: Mit Progesteron ohne Östron ist bei einer Dosis von 1 mg täglich kein lobulo-alveolärer Aufbau der Mamma zu erreichen (I. Versuchsserie). Der in älteren Arbeiten beschriebene vollständige Aufbau der Meerschweinchenmilchdrüse mit Östrogenen ohne Progesteron ist wahrscheinlich auf die Methoden zurückzuführen, die es nicht gestatten, eine Verbesserung durch Progesteron festzustellen (NELSON 1937). Weiterhin ist die Reinheit der verabreichten Substanzen anzuzweifeln.

Zum bereits beschriebenen mammogenen Hormonkomplex gehören auch beim Meerschweinchen Kortikoide. Östrogene können im adrenalektomierten männlichen Meerschweinchen kein lobulo-alveoläres Wachstum der Milchdrüsen induzieren (HÖHN 1957). Die Reaktion der Meerschweinchenmilchdrüse auf eine Östrogenbehandlung ist deshalb wahrscheinlich auf das Zusammenwirken mit adrenalen Faktoren zurückzuführen, die das Progesteron möglicherweise begrenzt ersetzen können.

Ein Zusammenhang zwischen dem Entwicklungsgrad der Milchdrüsen und der Gewichtsveränderung der Hypophysen läßt sich nur mit Vorbehalt beweisen. Die Hypophysengewichte der Gruppen, die mit Östron und Östron/Progesteron behandelt wurden, sind zwar signifikant erhöht, jedoch ist die Gewichtserhöhung nicht eindeutig korreliert mit dem Grad des Milchdrüsenaufbaus.
Versuchsserie I, Abbildung 101: Die Hypophysengewichte der mit Östron behandelten Tiere und der männlichen, mit Östron/

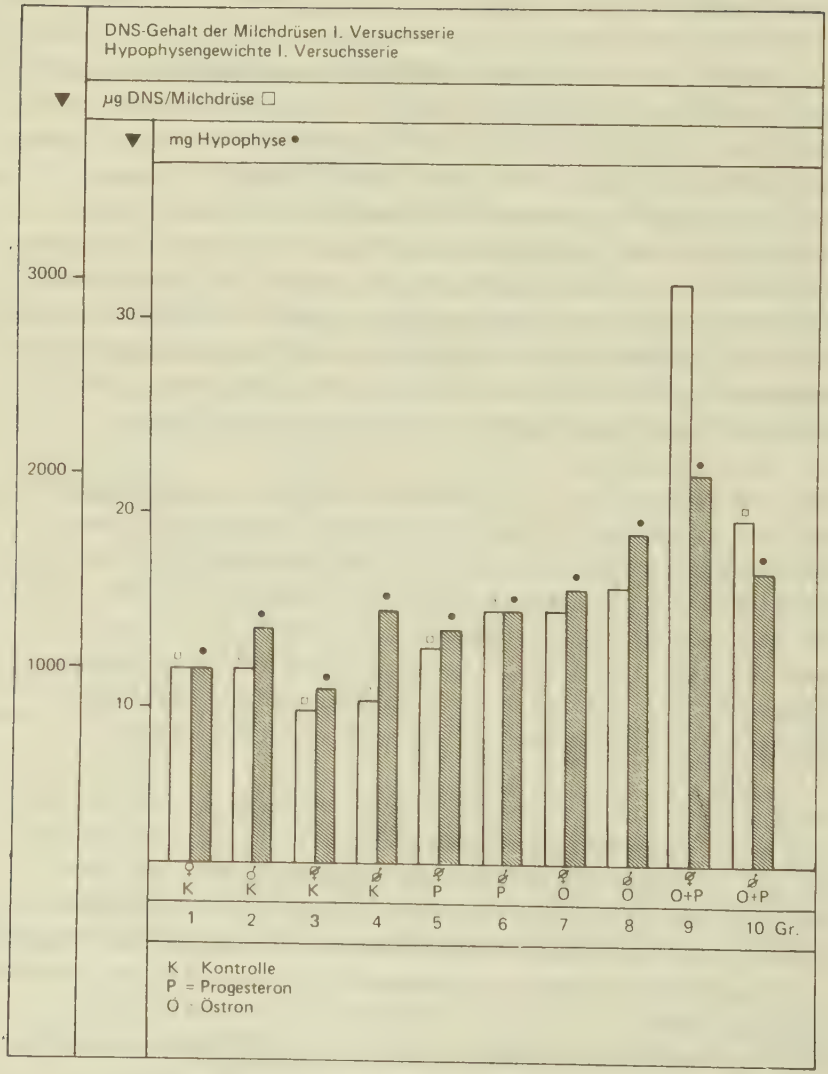


Abbildung 101

Progesteron behandelten Gruppe sind etwa gleich. Die Gruppe der weiblichen, mit Östron/Progesteron behandelten Tiere zeigt sowohl in der Milchdrüsenentwicklung als auch in den Hypophysengewichten die höchsten Werte. Der Geschlechtsunterschied, der bei den Gruppen 9 und 10 bereits in der Milchdrüsenentwicklung beobachtet werden konnte, bestätigt sich in den Ergebnissen der Hypophysengewichte (Versuchsserie I).
Die Hypophysengewichte der Gruppen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 zeigen nur geringfügige Unterschiede. Die geringe Differenz im DNS-Gehalt der Milchdrüsen der normalen weiblichen und männlichen Kontrollen macht sich in den Werten der Hypophysengewichte zwar bemerkbar, läßt sich aber statistisch nicht absichern (Versuchsserie I).

Bei den mit Östron und den mit Östron/Progesteron behandelten Gruppen zeigen die histologischen Bilder der Hypophysen deutlich eine Vermehrung der lactotropen Zellen, die höchstwahrscheinlich die Gewichtszunahmen bewirkt. Der Schluß von einer Vermehrung der Anzahl der Prolactin-bildenden Zellen auf die tatsächlich gespeicherte oder freigesetzte Prolactinmenge liegt zwar nahe, läßt sich jedoch mit dieser Methode nicht absichern.
Da die in dieser Versuchsserie verabreichten Hormone auch bei Meerschweinchen nicht direkt die Milchdrüse stimulieren (GOMEZ und TURNER 1936; GOMEZ 1942), und das bei den männlichen und weiblichen kastrierten Kontrollen bestimmte Drüsengewebe quantitativ gleich entwickelt ist, ist der Grund für die Differenz bei den Geschlechtern (Gruppen 9 und 10) wahrscheinlich im Prolactin-bildenden und die Prolactinsekretion kontrollierenden System zu suchen.

Das Hypothalamus-Hypophyse-System könnte einer genetischen oder hormonell bedingten unterschiedlichen, geschlechtsabhängigen Entwicklung unterworfen sein (NEUMANN, ELGER und STEINBECK 1971).

Es sind folgende Gründe für die festgestellte geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsenentwicklung nach Östron/Progesteron Behandlung der Meerschweinchen möglich:

Quantitative und (oder) qualitative Unterschiede

a) der Milchdrüsen
b) der Hypophysen
c) bestimmter Hypothalamus-Gebiete

Der quantitative Unterschied der Milchdrüsen bei den Geschlechtern kann ausgeschlossen werden. Nach Untersuchungen an der Ratte konnte festgestellt werden, daß histologisch kein Unterschied in der Quantität des Drüsengewebes besteht (RIESER, SCHULZ und NEUMANN 1970). Auch in dieser Untersuchung an Meerschweinchen zeigen die Ergebnisse der DNS-Bestimmung und der Histologie (Abbildungen 12, 14, 60), daß offenbar in der Menge des Milchdrüsengewebes kastrierter männlicher und weiblicher Tiere kein Unterschied besteht. Die geringen Unterschiede, die bei den Kontrollen der Versuchsserie III festgestellt wurden, sind nicht signifikant (Statistik Seite 69,70). Es ist sehr zweifelhaft, ob diese Differenzen den um ca. 200 % unterschiedlichen Entwicklungsgrad der Drüsen nach der Behandlung mit Östron und Progesteron (DNS-Bestimmung III. Versuchsserie) bewirken können. Qualitative Differenzen der Milchdrüsen männlicher und weiblicher Tiere auf zellulärer Ebene sind denkbar. Rezeptoren, die für Prolactin sensibel sind, könnten im weiblichen Drüsengewebe in größerer Anzahl vorhanden sein. Unterschiedliche Affinitäten zu Prolactin sowie die Blokkierung von Rezeptoren des männlichen Drüsengewebes könnten die Ursache für die unterschiedliche Entwicklung der Mamma sein. Es gibt jedoch bis jetzt keine Beweise für qualitative Unterschiede des Milchdrüsengewebes bei den Geschlechtern.

Versuche mit Hypophysenhomo- und Heterotransplantaten an der Ratte (BEIER 1974) gaben keinen Hinweis, daß die Hypophysen männlicher und weiblicher Tiere auf eine Östrogen-Gestagen-Behandlung unterschiedlich reagieren.

Nach der Theorie von NEUMANN, ELGER und STEINBECK 1971 hat der Hypothalamus die zentrale Bedeutung für die geschlechtsabhängige Milchdrüsenentwicklung. Es wird angenommen, daß der Rückkopplungsmechanismus zwischen Östrogenen und Prolactin bei den Geschlechtern durch embryonale hormonelle Differenzierungsvorgänge unterschiedlich determiniert wird. Bei weiblichen Tieren soll die PIF-Sekretion stärker gehemmt werden als bei männlichen. Die Folge ist eine bei den Geschlechtern unterschiedliche Prolactinsekretionsrate und damit eine unterschiedliche Milchdrüsenentwicklung. Weitere Hinweise für die Richtigkeit dieser Theorie gab unter anderem eine Arbeit von NEILL (1972).

Die an der Ratte durchgeführten Versuche mit virilisierten weiblichen und feminisierten männlichen Tieren lassen den Schluß zu, daß das PIF-ausschüttende hypothalamische Zentrum in einer während der Embryonalentwicklung gelegenen Phase durch fetale Androgene zum männlichen Typ geprägt wird, während das Fehlen männlicher Sexualhormone den weiblichen Typ terminiert (v. HASSELBACH 1970).
Eine hormonelle Prägung ist also wahrscheinlicher.

Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Applikation von Methyltestosteron während der kritischen Phasen der Hypothalamusdifferenzierung starke Virilisierungseffekte hinsichtlich der Milchdrüsenentwicklung der weiblichen Nachkommen zur Folge hat. Die quantitative Bestimmung des Milchdrüsenwachstums (DNS-Bestimmung Versuchsserie III, Abbildung 68) ergab für diese weiblichen Tiere Werte, die erheblich unter denen normaler weiblicher Tiere liegen.

Das Androgen Methyltestosteron, während desselben Zeitraumes der Fetalentwicklung verabreicht, reduziert das Milchdrüsenwachstum weiblicher Meerschweinchen signifikant. Ein Einfluß des Methyltestosterons auf die Entwicklung der männlichen Mamma ist nicht feststellbar.
Umgekehrt ist die Milchdrüsenentwicklung männlicher Meerschweinchen, bei denen während der Fetalperiode die Androgenwirkung durch Cyproteronacetat gehemmt wurde, im Vergleich zu normalen männlichen Kontrolltieren wesentlich größer. Jedoch ist die antiandrogene Wirkung des Cyproteronacetats im Vergleich zur androgenen Wirkung des Methyltestosterons wesentlich schwächer. Während Methyltestosteron das Milchdrüsenwachstum weiblicher Meerschweinchen um etwa 100 % reduzierte, sind die Milchdrüsen männlicher Tiere durch Behandlung mit Cyproteronacetat nur um ca. 44 % stärker zu stimulieren.

Auffallend ist der an weiblichen Meerschweinchen festgestellte gegensätzliche Effekt des Cyproteronacetats (Abbildung 68). Diese Tiere zeigen etwa die gleiche Reduktion der Milchdrüsenentwicklung wie die mit Methyltestosteron behandelte weibliche Gruppe. Cyproteronacetat, nach vielen Untersuchungen als Antiandrogen und Gestagen bekannt, bewirkt bei weiblichen Meerschweinchen (Applikation vom 25. bis 40. Tag der Fetalentwicklung) eine starke Reduktion des Milchdrüsenwachstums. Die Tatsache, daß dasselbe Hormon sowohl feminisierende wie virilisierende Effekte hat, ist nicht eindeutig zu erklären. Möglicherweise wird die Substanz, sie wird in unphysiologisch hohen Dosen appliziert, im Stoffwechsel des Meerschweinchens zum Teil in eine androgen wirksame Verbindung transformiert.
Virilisierende Wirkungen des Cyproteronacetats wurden bereits von Autoren beschrieben, die den Einfluß dieser Substanz auf die Genitalorgane des Meerschweinchens untersuchten. Mit Ausnahme der schwachen Virilisierungseffekte,

die bei weiblichen Kaninchen beobachtet wurden (ELGER 1966), zeigte Cyproteronacetat sonst bei keinem der vielen Versuche, die mit diesem Steroid durchgeführt wurden, virilisierende Eigenschaften (NEUMANN und HAMADA 1963; HAMADA, NEUMANN und JUNKMANN 1963; NEUMANN, RICHTER und GÜNZEL 1965; NEUMANN, ELGER und KRAMER 1966; NEUMANN, ELGER und STEINBECK 1970; ELGER 1966; ELGER, NEUMANN, STEINBECK und HAHN 1970; ELGER, STEINBECK, CUPCEANCU und NEUMANN 1970; STEINBECK, NEUMANN und ELGER 1970; GRÄF und NEUMANN 1972; GRÄF, KLEINECKE und NEUMANN 1974).

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen den Schluß zu, daß offenbar auch beim Meerschweinchen die fetalen Androgene für die geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsenentwicklung entscheidend sind. Ob die Androgene auf den Hypothalamus eine "prägende" Wirkung haben, kann allerdings nicht endgültig bewiesen werden. Nur unter der Voraussetzung, daß die Milchdrüsen männlicher und weiblicher Meerschweinchen vor der Behandlung quantitativ und qualitativ völlig gleich entwickelt sind, wäre diese Theorie richtig. Es konnte gezeigt werden, daß die Milchdrüsen männlicher und weiblicher Meerschweinchen vor der Behandlung mit Östron und Progesteron quantitativ nicht unterschiedlich entwickelt sind. Die Resultate dieser Versuche stimmen mit Untersuchungsergebnissen von Experimenten an der Ratte überein (v. HASSELBACH 1970). Offenbar wird die Empfindlichkeit von Sexualhormon-Rezeptoren im Hypothalamus durch fetale Androgene herabgesetzt. Bei weiblichen Tieren wird die Sekretion des PIF stärker gehemmt als bei den männlichen, daraus resultiert eine größere Prolactinsekretion der Hypophyse: Die geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsenentwicklung ist die Folge einer bei weiblichen und männlichen Tieren differenten Prolactinsekretion. Eine sichere Aussage ist jedoch nur durch eine radioimmunologische Prolactinbestimmung oder durch ein Rezeptorassay des Hypothalamus oder des Milchdrüsengewebes möglich.

V. DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. F. Neumann danke ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit und für die freundliche Beratung bei der Durchführung der Untersuchungen.

Daneben gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Keller für viele wertvolle Hinweise und für sein Interesse am Fortgang der Arbeit.

Den Mitarbeitern der Abteilung für experimentelle Endokrinologie möchte ich für ihre Hilfe besonders herzlich danken, vor allem Fräulein Sperling, Herrn Gröning und Herrn Leidecker.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. An gonadektomierten weiblichen und männlichen Meerschweinchen wurde eine vergleichende Untersuchung der Milchdrüsenentwicklung unter dem Einfluß von Östron und Progesteron durchgeführt. Die Behandlung mit diesen Hormonen hatte die Stimulierung der hypophysären Prolactinsekretion zum Ziel.
Weiterhin wurde an Meerschweinchen untersucht, welchen Einfluß Androgene auf die Differenzierung derjenigen hypothalamischen Zentren haben, welche die hypophysäre Prolactinsekretion steuern.

Gravide Meerschweinchen wurden vom 25. bis 40. Tag der Schwangerschaft (Phase der Differenzierung des Hypothalamus) mit Cyproteronacetat (Antiandrogen) und Methyltestosteron (Androgen) behandelt. Die Milchdrüsenentwicklung der männlichen und weiblichen Nachkommen dieser Tiere wurde nach Behandlung mit einer Östron/Progesteron Kombination verglichen.

Als Parameter für den Grad der Prolactinsekretion wurden der Grad des Milchdrüsenaufbaus und die Hypophysen von Tieren beider Geschlechter mit folgenden qualitativen und quantitativen Methoden untersucht:

I. Milchdrüsenganzdarstellung ("whole mounts")
II. Milchdrüsenhistologie
III. DNS-Bestimmung
IV. Saugwarzenlängenmessung
V. Saugwarzenhistologie
VI. Hypophysengewichtsbestimmung
VII. Hypophysenhistologie

2. Die Hypophysen der mit Östron und der mit der Kombination Östron/Progesteron behandelten Tiere zeigen gewichtsmäßig und histologisch signifikante Veränderungen im Vergleich zu den Kontrolltieren.

   Die azidophilen lactotropen Zellen der Adenohypophyse sind stark vermehrt, die Hypophysengewichte vergrößert. Ein linearer Zusammenhang zwischen dem Grad der Milchdrüsenentwicklung und den Hypophysengewichten ist annähernd nachzuweisen.

3. Die geschlechtsunterschiedliche quantitative Reaktion der Milchdrüse bei identischer Östron/Progesteron Behandlung konnte bewiesen werden. Die männliche Milchdrüse zeigt im Vergleich zur weiblichen eine signifikant geringere Menge Drüsengewebe (DNS-Bestimmung).

4. Die Ergebnisse der Saugwarzenlängenmessung und der -histologie weisen auf einen direkten Einfluß des Östrons hin. Progesteron hat in Kombination mit Östron offenbar eine geschlechtsspezifische Wirkung auf das Saugwarzenwachstum. Bei männlichen Tieren ist bei der zusätzlichen Behandlung mit Progesteron eine deutliche Hemmwirkung zu beobachten.

5. Die synergistische Wirkungsweise von Östron und Progesteron konnte bewiesen werden: Progesteron vermag, im Vergleich zur alleinigen Östronwirkung, die Milchdrüsen männlicher und weiblicher Tiere in Kombination mit Östron signifikant stärker zu stimulieren.

6. Die Gruppen der kastrierten männlichen und der ovarektomierten weiblichen Tiere zeigen quantitativ gleichen Milchdrüsenaufbau: Gangsystem und keine Alveolen. Qualitativ lassen sich aus den histologischen Bildern keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern erkennen.

7. Die antiandrogene Wirkung des Cyproteronacetats zeigte sich in einem größeren Stimulierungsgrad der Milchdrüsen männlicher Tiere im Vergleich zu normalen männlichen Meerschweinchen. Neben der bei männlichen Tieren festgestellten antiandrogenen Wirkung des Cyproteronacetats wurde bei weiblichen Tieren eine starke androgene Wirkung festgestellt.

8. Methyltestosteron reduzierte die Milchdrüsenentwicklung weiblicher Tiere signifikant. Der Milchdrüsenentwicklungsgrad männlicher Tiere wird durch während der Embryonalentwicklung appliziertes Methyltestosteron nicht beeinflußt.

9. Die Ergebnisse weisen auf ein geschlechtsabhängig reagierendes System hin, das die Milchdrüsenentwicklung steuert. Die entscheidende Bedeutung kommt sicher dem Prolactin zu, das unbedingt für den vollständigen Milchdrüsenaufbau notwendig ist. Die unterschiedliche Differenzierung des Hypothalamus-Hypophysen-Komplexes dürfte für die offenbar unterschiedliche Prolactinsekretionsrate bei männlichen und weiblichen Meerschweinchen verantwortlich sein.

Die Ergebnisse stimmen gut mit Arbeiten an der Ratte überein, in denen die Androgenabhängigkeit der Differenzierung der Genitalorgane, der Sexualfunktionen und des Sexualverhaltens

bewiesen wurde. Die Möglichkeit einer geschlechtsunterschiedlichen Differenzierung der Milchdrüsenanlage, z.B. auf zellulärer Basis (Rezeptoren) wurde diskutiert.
Den letzten Beweis könnte eine radioimmunologische Serumprolactinbestimmung erbringen, die bei Meerschweinchen noch nicht durchgeführt werden kann.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Aberle, S.D.B. (1934):
Growth of mammary gland in rhesus monkey.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 32, 249

Ahren, K. (1959):
Effect of insulin on body growth and mammary gland development in force-fed hypophysectomized rats injected with ovarian hormones.
Acta endocrinol. (Kbh.) 30, 593

Ahren, K. und M. Etienne (1958):
Stimulation of mammary glands in hypophysectomized male rats treated with ovarian hormones and insulin.
Acta endocrinol. (Kbh.) 28, 89

Ahren, K. und M. Etienne (1959):
The effect of testosterone alone and combined with insulin on the mammary glands of castrated and hypophysectomized rats.
Acta endocrinol. (Kbh.) 30, 109

Ahren, K. und D. Jacobsohn (1956):
Mammary gland growth in hypophysectomized rats injected with ovarian hormones and insulin.
Acta physiol. scand. 37, 190

Anderson, R.R., A.D. Brookreson und C.W. Turner (1961):
Experimental growth of mammary gland in male and female mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 106, 567

Arimura, A., T. Saito, E.E. Müller, C.Y. Bowers, S. Sawano und A.V. Schally (1967):
Absence of prolactin-release inhibiting activity in highly purified LH-releasing factor.
Endocrinol. 80, 972

Astwood, E.B. (1941):
The regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotrophin.
Endocrinol. 28, 309

Astwood, E.B. und C.F. Geschickter (1938):
Changes in the mammary gland of the rat produced by various glandular preparations.
Arch. Surg. 36, 672

Astwood, E.B., C.F. Geschickter und E.O. Rausch (1937):
Development of the mammary gland of the rat.
A study of normal, experimental and pathologic changes and their endocrine relationships.
Amer. J. Anat. 61, 373

Athias, M. (1915):
L'activité sécrétoire de la glande mammaire hyperplasiée chez le cobaye mâle châtré consecutivement à la greffe d'ovaire.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 78, 410

Barraclough, C.A. (1961):
Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate.
Endocrinology 68, 62

Barraclough, C.A. und R.A. Gorski (1961):
Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat.
Endocrinology 68, 68

Barraclough, C.A. und R.A. Gorski (1962):
Studies on mating behaviour in the androgen-sterilized female rat in relation to the hypothalamic regulation of sexual behaviour.
J. Endocr. 25, 175

Bates, R.W., R.A. Miller und M.M. Garrison (1962):
Evidence in the hypophysectomized pigeon of a synergism among prolactin, growth hormone, thyroxine and prednisone upon weight of the body, digestive tract, kidney and fat stores.
Endocrinol. 71, 345

Beier, S. (1973):
Untersuchungen an Ratten über den positiven Rückkopplungsmechanismus zwischen Östrogenen und Prolactin.
Diplomarbeit Schering AG, Berlin

Beier, S. (1974):
Untersuchungen an Ratten zur kausalen Genese der geschlechtsunterschiedlichen Prolactin-Sekretion.
Inaugural-Dissertation im Fachbereich Biologie (FB 23) der Freien Universität Berlin

Ben-David, M., S. Dikstein und F.G. Sulman (1964):
Effect of different steroids on prolactin secretion in pituitary-hypothalamus organ co-culture.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 117, 511

Bengmark, S. und R. Hesselsjo (1963):
The combined effect of prolactin and androsterone on the growth of rat seminal vesicle in vitro.
Urol. Internatl. (Basel) 16, 387

Bengmark, S. und R. Hesselsjo (1964):
Endocrine dependence of rat seminal vesicle tissue in tissue culture.
Urol. Internatl. 17, 84

Benson, G.K., A.T. Cowie, S.J. Folley und J.S. Tindal (1959):
Recent developments in endocrine studies on mammary growth and lactation.
In: Lloyd, C.W. (ed.) "Recent progress in the endocrinology of reproduction", p. 457
N.Y. and Lond.: Academic Press Inc.

Benson, G.K., A.T. Cowie, C.P. Cox, D.S. Flux und S.J. Folley (1955):
Studies on the hormonal induction of mammary growth and lactation in the goat.
II. Functional and morphological studies of hormonally developed udders with special reference to the effect of triggering doses of oestrogen.
J. Endocrinol. 13, 46

Benson, G.K., A.T. Cowie, C.P. Cox und S.A. Goldzveig (1957):
Effects of oestrone and progesterone on mammary development in the guinea-pig.
J. Endocrinol. 15, 126

Brookes, L.D. (1968):
A stain for differentiating two types of acidophil cells in the rat pituitary.
Stain Technol. 43, 41

McCann, S.M. und J.C. Porter (1969):
Hypothalamic pituitary stimulating and inhibiting hormones.
Physiol. Rev. 49, 240

Chen, C.L., Y. Amenomori, K.H. Lu, J.L. Voogt und J. Meites (1970):
Serum prolactin-levels in rats with pituitary implants or hypothalamic lesions.
Neuroendocrinol. 6, 220

Chen, C.L., J.L. Voogt und J. Meites (1968):
Effect of median eminence implants of FSH, LH or prolactin on luteal function in the rat.
Endocrinol. 83, 1273

Chowers, I. und S.M. McCann (1967):
Comparison of the effect of hypothalamic and pituitary implants of estrogen, testosterone on reproductive system and adrenal of female rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 124, 260

Cleveland, R. und J.M. Wolfe (1932):
A differential stain for the anterior lobe of the hypophysis.
Anat. Rec. 51, 409

Cole, H.A. (1933):
The mammary gland of the mouse, during the oestrus cycle, pregnancy and lactation.
Proc. roy. Soc. 114, 136

Cook, A.R. (1959):
Effects of hypothalamic lesions on endocrine activity in female rats.
Tex. Rep. Biol. Med. 17, 512

Cowie, A.T. (1949):
The relative growth of the mammary gland in normal, gonadectomized and adrenalectomized rats.
J. Endocrinol. 6, 145

Cowie, A.T. und W.R. Lyons (1959):
Mammogenesis and lactogenesis in hypophysectomized, adrenalectomized, ovariectomized rats.
J. Endocrinol. 19, 29

Desclin, L. (1940):
Influence de la section de la tige hypophysaire sur la lactation chez le rat blanc.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 134, 267

Desclin, L. (1952):
Interaction between prolactin and progesterone in the regulation of the secretory processes in the mammary gland.
Ciba. Found. Coll. on Endocrinol. 4, 395

Desclin, L. und L. Konlischer (1960):
Action d'un traitement oestrogénic sur la teneur en prolactine de l'hypophyse greffée chez le rat.
C. r. Séanc. Soc. Biol. 154, 1515

DeVoe, W.F., V.D. Ramirez und S.M. McCann (1966):
Induction of mammary secretion by hypothalamic lesions in male rats.
Endocrinol. 78, 158

Dhariwal, A.P.S., C.E. Grosvenor, J. Antunes-Rodrigues und S.M. McCann (1968):
Studies on the purification of ovine-prolactin-inhibiting-factor.
Endocrinol. 82, 1236

Dodds, E.C., W. Lawson, M.D. Toronto und R.L. Noble (1938):
Biological effects of the synthetic oestrogenic substance 4:4'Dihydroxy-α:ß-Diethylstilbene.
Lancet 1389, 1398

Dohm, G. (1963):
Fortschritte der Histophysiologie des Hypophysen-vorderlappens.
Klin. Wschr. 41, 1117

Donovan, B. (1973):
Neuroendokrinologie der Säugetiere.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Donovan, B.T. und G.W. Harris (1955):
Neurohumoral mechanisms in reproduction.
Brit. med. Bull. 11, 93

Dorfman, R.I. und A.S. Dorfman (1963):
The assay of subcutaneously injected androgens in the castrated rat.
Acta endocrinol. (Kbh.) 42, 245

Dorfman, R.I. und F.A. Kind (1963):
Relative potency of various steroids in an anabolic-androgenic assay using the castrated rat.
Endocrinol. 72, 259

Elger, W. (1966):
Die Rolle der fetalen Androgene in der Sexual-differenzierung des Kaninchens und ihre Abgrenzung gegen andere hormonale und somatische Faktoren durch Anwendung eines starken Antiandrogens.
Arch. Anat. microscop. Morph. exp. 55, 658

Elger, W. und F. Neumann (1966):
The role of androgens in the differentiation of the mammary gland in male mouse fetuses.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 123, 637

Elger, W., F. Neumann, H. Steinbeck und J.D. Hahn (1970):
The significance of hormones in mammalian sex differentiations as evidenced by experiments with synthetic androgens and antiandrogens.
In: Gibian, H. und E.J. Plotz (eds.) "Mammalian Reproduction", p. 33
Berlin, Heidelberg, New York: Springer
21. Colloq. Ges. Biol. Chem. Mosbach/Baden, April 1970

Elger, W., H. Steinbeck, B. Cupceancu und F. Neumann (1970):
Influence of methyltestosterone and cyproterone acetate on Wolffian duct differentiation in female rat foetuses.
J. Endocrinol. 47, 417

Eltreby, M.F. und U. Tüshaus (1973):
A stain for differentiating growth hormone and prolactin-producing cells in the adenohypophysis.
Histochemie 33, 121

Emmart, E.W., R.W. Bates und W.A. Turner (1965):
Localisation of prolactin in rat pituitary and in transplantable mammotropic tumor using fluorescent antibody.
J. Histochem. Cytochem. 13, 182

Emmart, E.W., S.S. Spicer und R.W. Bates (1963):
Localisation of prolactin by specific fluorescent antiprolactin globulin within the pituitary.
J. Histochem. Cytochem. 3, 365

Etzel, V., B. Schenck und F. Neumann (1974):
Influence of cyproterone acetate during pregnancy of the sexual behaviour of male guinea-pigs.
J. Reprod. Fert. 37, 315

Everett, J.W. (1956):
Functional corpora lutea maintained for months by autografts of rat hypophyses
Endocrinol. 58, 786

Everett, J.W. (1964):
Central neural control of reproductive function of the adenohypophysis.
Physiol. Rev. 44, 373

Everett, J.W. (1966):
The control of the secretion of prolactin.
In: Harris, G.W. und B.T. Donovan "The pituitary gland", II, p. 166
Butterworths, Lond.

Ferguson, D.J. (1956):
Endocrine control of mammary glands in C_3H mice.
Surgery 39, 30

Flerko, B (1966):
Control of gonadotrophin secretion in the female.
In: Martini, L.W. und W.F. Ganong (eds.)
Neuroendocrinol. Vol. 1, p. 613
Academic Press, N.Y.

Flerko, B. und V. Bardos (1959):
Zwei verschiedene Effekte experimenteller Läsion des Hypothalamus auf die Gonaden.
Acta neuroveg. 20, 248

Flerko, B. und V. Bardos (1966):
Prolongation of diestrus in rats with diencephalic and mesencephalic lesions.
Expl. Brain Res. 1, 299

Flux, D.S. (1954):
Effect of 17-Vinyltestosterone on the mammae, uteri, thymus and adrenal glands of spayed female mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 85, 16

Flux, D.S. (1957):
The growth-stimulating effect of growth hormone and L-thyroxine on the mammary glands and uterus of the mouse.
J. Endocrinol. 15, 266

Flux, D.S. (1958):
Mammary gland growth in male mice of the CHI strain after hypophysectomy and castration.
J. Endocrinol. 17, 300

Folley, S.J. (1952):
Aspects of pituitary mammary gland relationships.
Rec. Progr. Hormone Res. 7, 107

Folley, S.J. (1952):
In: Parker, A.S. (ed.) "Marshall's physiology of reproduction, 3rd ed. Vol. II, p. 525
Lond. Longmans, Green Co.

Folley, S.J. (1955):
Hormones in mammary growth and function.
Brit. med. Bull. 11, 145

Folley, S.J. (1956):
The physiology and biochemistry of lactation.
Edinburgh: Oliver and Boyd

Folley, S.J., A.N. Guthkelch und S. Zuckermann (1939):
The mammary gland of the rhesus monkey under normal and experimental conditions.
Proc. roy. Soc. 126, 469

Folley, S.J., H.M. Scott Watson und A.C. Bottomley (1941):
Studies on experimental teat and mammary development and lactation in the goat.
J. Dairy Res. 12, 241

Gardener, W.U. (1935):
The effect of ovarian hormones and ovarian grafts upon the mammary glands of male mice.
Endocrinol. 19, 656

Gardener, W.U. und G. van Wagnen (1938):
Experimental development of the mammary gland of the monkey.
Endocrinol. 22, 164

Gardener, W.U. und A. White (1941):
Mammary growth in hypophysectomized male mice receiving oestrogen and prolactin.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 48, 590

Gräf, K.-J. und F. Neumann (1972):
Influence of cyproterone acetate on sexual differentiation of male guinea-pigs.
Z. Anat. Entwicklungsgesch. 137, 200

Gräf, K.-J., R.-L. Kleinecke und F. Neumann (1974):
The induction of "paradoxial reactions" in the internal and external genitalia of female guinea-pigs using cyproterone acetate.
J. Reprod. Fert. 39, 311

Grayhack, J.T. (1963):
In: J. Ntl. Cancer Inst. Monograph. 12, 189

Griffith, D.R. und C.W. Turner (1961):
Normal growth of rat mammary glands during pregnancy and early lactation.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 106, 448

Grosvenor, C.E., F. Mena, A.P.S. Dhariwal und S.M. McCann (1967):
Reduction of milk secretion by prolactin-inhibiting-factor; further evidence, that exteroceptive stimuli can release pituitary prolactin in rats.
Endocrinol. 81, 1021

Grosvenor, C.E., S.M. McCann und R. Nallar (1965):
Inhibition of nursing induced and stress-induced fall in pituitary prolactin concentration in lactating rats by injections of acid extracts of bovine hypothalamus.
Endocrinol. 76, 883

Grosvenor, C.E., F. Mena und D. Schaefgen (1967):
Effect of non-suckling interval and duration of suckling on the suckling-induced fall in pituitary prolactin concentration in the rat.
Endocrinol. 81, 449

Halban, J. (1900):
Über den Einfluß der Ovarien auf die Entwicklung des Genitales.
Mschr. Geburtsh. Gynäk. 12, 496

Hamada, H., F. Neumann und K. Junkmann (1963):
Intrauterine antimaskuline Beeinflussung von Rattenfoeten durch ein stark gestagen wirksames Steroid.
Acta endocrinol. (Kbh.) 44, 380

Hammond, J. (1936):
The physiology of milk and butter fat secretion.
Vet. Res. 16, 519

Hammond, J. (1951):
The induction of milk secretion.
Colloqu. Int. Cent. nat. Rech. sci. 32, 9

Harkness, M.L.R. und R.D. Harkness (1956):
The effect of pregnancy and lactation on the collagen content of the mammary gland of the rat.
J. Physiol. (Lond.) 132, 476

Harris, G.W. (1963):
Castration of the newborn male rat and lack of sexual differentiation of the brain.
J. Physiol. (Lond.) 169, 117

Harris, G.W. (1964):
Sex hormons, brain development and brain function.
Endocrinology 75, 627

v. Hasselbach, C. (1970):
Untersuchungen an Ratten über die Bedeutung der perinatalen Androgene für die Differenzierung der hypothalamischen Kerngebiete, die die hypophysäre Prolactinsekretion regulieren.
Diss. Schering AG, Berlin

Herlant, M. (1960):
Etude critique de deux techniques nouvelles destinées a mettre en évidence les différentes catégories cellulaires présentes dans la glande pituitaire.
Bull. Micr. appl. 10, 37

Herlant, M. (1964):
The cells of the adenohypophysis and their significance.
Int. Rev. Cytol. 17, 299

Herlant, M. und J.L. Pasteels (1967):
Histophysiology of human anterior pituitary.
Meth. Achiev. exp. Path. 3, 250

Herlyn, U., H.F. Geller, I. v.Berswordt-Wallrabe und R. v.Berswordt-Wallrabe (1965):
Pituitary lactogenic hormone release during onset of pseudopregnancy in intact rats.
Acta endocrinol. (Kbh.) 48, 220

Höhn, E.O. (1957):
The effect of oestrone on the mammary gland of adrenalectomized guinea-pigs.
J. Endocrinol. 16, 227

Jacobsohn, D. (1958):
Mammary gland growth in relation to hormones with metabolic actions.
Proc. roy. Soc. 149, 325

Jacobsohn, D. (1962):
Modification by oestrogens of the reaction of the rat mammary gland to androgens.
Acta endocrinol. (Kbh.) 41, 88

Jacobsohn, D. (1962):
Interactions of oestrogens and androgens on the mammary gland and growth of other tissues in hypophysectomized rats treated with insulin, cortisone and thyroxine.
Acta endocrinol. (Kbh.) 41, 287

Jacobsohn, D. und A. Norgren (1965):
Oestrogens and corticoids in relation to mammary gland growth in male rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 118, 1106

Kahn, R.H. und B.L. Baker (1966):
Prolactin content of the rat hypophysis following treatment with norethynodrel.
Acta endocrinol. (Kbh.) 51, 411

Kanematsu, S., J. Hilliard und C.H. Sawyer (1963):
Effect of reserpine on pituitary prolactin content and its hypothalamic site of action in the rabbit.
Acta endocrinol. (Kbh.) 44, 467

Kanematsu, S. und C.H. Sawyer (1963):
Effects of intrahypothalamic and intrahypophyseal oestrogen implants on pituitary prolactin and lactation in the rabbit.
Endocrinol. 72, 243

Kirkham, W.R. und C.W. Turner (1953):
Nucleic acids of the mammary glands of rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 83, 123

Knauer, E. (1900):
Die Ovarientransplantation.
Arch. Gynäk. 60, 322

Kobayashi, T., T. Kigawa, M. Mizuno und Y. Amenomori (1963):
Prolactin secretion of rat anterior pituitary cultivated in vitro.
Endocrinol. Jap. 10, 199

Kon, S.K. und A.T. Cowie (1961):
Ed: Milk: The mammary gland and its secretion.
Academic Press, N.Y.

Koziorowska, J. (1962):
Influence of hormones on mouse mammary glands cultered in vitro.
Acta Unio Internatl. Contra Cancerum 18, 211

Kracht, J. und U. Hachmeister (1969):
Hormonbildungsstätten im Hypophysenvorderlappen des Menschen
Oestrogene, Hypophysentumoren, Ed: Kracht, J., S. 200, Springer, Berlin-Heidelberg-New York

Kumaresan, P. und C.W. Turner (1965):
Effect of growth hormone and thyroxine on mammary gland growth in the rat.
J. Diary Sci. 48, 592

Kumaresan, P. und C.W. Turner (1965):
Effect of insuline and alloxan on mammary gland growth in rats.
J. Diary Sci. 48, 1378

Kumaresan, P. und C.W. Turner (1966):
Effect of neonatal administration of testosterone propionate upon mammary gland growth in female rats.
Endocrinol. 79, 443

Kumaresan, P. und C.W. Turner (1967):
Effect of various hormones on mammary gland growth of ovariectomized rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 125, 556

Kuroshima, A., A. Arimura, C.Y. Bowers and A.V. Schally (1966):
Inhibition by pig hypothalamic extracts of depletion of pituitary prolactin in rats following cervical stimulation.
Endocrinol. 78, 216

Kurcz, M., K. Kovacs, T. Toboldi und A. Orosz (1967):
Effect of androgenisation on adenohypophysial prolactin content in rats.
Acta endocrinol. (Kbh.) 54, 663

Lane-Claypon, J.E. und E.H. Starling (1906):
An experimental inquiry into the factors which determine the growth and activity of the mammary glands.
Proc. roy. Soc. 77, 505

Laquer, E., E. Borchardt, E. Dingemanse und S.E. Jongh (1928):
Über weibliches Sexualhormon Menformon.
Deut. Med. Wochenschr. 54, 465

Lewis, A.A. und C.W. Turner (1942):
Growth of the male guinea-pig mammary gland with diethylstilbestrol.
Endocrinol. 30, 585

Li, C.H. (1957):
Studies on pituitary lactogenic hormone.
J. biol. Chem. 229, 157

Li, C.H., R.D. Cole und M. Coval (1957):
Studies on pituitary lactogenic hormone.
J. biol. Chem. 229, 153

Li, C.H. und J.T. Cummins (1958):
Studies on pituitary lactogenic hormone.
J. biol. Chem. 233, 73

Li, C.H. und H.M. Evans (1958):
In: "The hormones", Vol. I, p. 631
Academic Press N.Y.

Li, C.H., I.I. Geschwing, A.L. Levy, J.I. Harris, J.S. Dixon, N.G. Don und J.O. Porath (1954):
Isolation and properties of alpha-corticotropin from sheep pituitary glands.
Nature 173, 251

Li, C.H., W.R. Lyons und H.M. Evans (1941):
Studies on pituitary lactogenic hormone.
J. biol. Chem. 140, 43

Li, C.H., M.E. Simpson und H.M. Evans (1942):
Studies on pituitary lactogenic hormone.
J. biol. Chem. 146, 627

Linzell, J.L. (1959):
Physiology of the mammary glands.
Physiol. Rev. 39, 534

Loeb, L. und C. Hesselberg (1917):
The cyclic changes in the mammary glands under normal and pathological conditions.
I. The changes in the non-pregnant guinea-pig.
J. exp. Med. 25, 285

Loeb, L. und C. Hesselberg (1917):
The cyclic changes in the mammary glands under normal and pathological conditions.
II. The changes in the pregnant guinea-pig, the effect of lutein injections, and the correlation between the cycle of the uterus and ovaries and the cycle of the mammary gland.
J. exp. Med. 25, 305

Lyons, W.R. (1942):
The direct mammotrophic action of lactogenic hormone.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 51, 308

Lyons, W.R. (1943):
Lobulo-alveolar mammary growth induced in hypophysectomized rats by injections of hypophyseal and ovarian hormones; in: Essays in biology, p. 317
Berkely: Calif. Univ. Press

Lyons, W.R. (1944):
Evidence of placental mammotrophin.
Anat. Res. 88, 446

Lyons, W.R. (1950):
Lobulo-alveolar mammary growth in the rat.
In: Méchanisme physiologique de la secrétion lactée.
Coll. Int. du C.N.R.S. (Strasbourg), p. 29

Lyons, W.R. (1958):
Hormonal synergism in mammary growth.
Proc. Soc. roy. 149, 303

Lyons, W.R. und H.R. Catchpole (1933):
Essay with an guinea-pig of the lactogenic hypophyseal hormone.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 31, 299

Lyons, W.R. und D.A. McGinthy (1941):
Effects of oestrone and progesterone on male rabbit mammary glands.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 48, 83

Lyons, W.R., C.H. Li, R.D. Cole und R.E. Johnson (1953):
Some of the hormones required by the mammary gland in its development and function.
J. clin. Endocrinol. 13, 836

Lyons, W.R., C.H. Li und R.E. Johnson (1956):
Direct action of mammary stimulating hormones.
J. clin. Endocrinol. 16, 967

Lyons, W.R., R.E. Johnson und C.H. Li (1957):
Local action of pituitary and ovarian hormones on the mammary glands of hypophysectomized-oophorectomized rats.
Anat. Rec. 127, 432

Lyons, W.R., C.H. Li und R.E. Johnson (1958):
The hormonal control of mammary growth and lactation.
Rec. Progr. Horm. Res. 14, 219

Lyons, W.R. und R.I. Pencharz (1936):
Reactions of mammary glands of normal and hypophysectomized male guinea-pigs to female sex-hormone.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 33, 589

Lyons, W.R., M.E. Simpson und H.M. Evans (1941):
Influence of lactogenic preparations on mammary glands and time of vaginal opening in young rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 48, 634

Lyons, W.R., M.E. Simpson und H.M. Evans (1942):
Lobulo-alveolar mammary growth in hypophysectomized rats.
Anat. Rec. 82, 430

v. Maanen, J.H. und P.G. Smelik (1968):
Induction of pseudopregnancy in rats following local depletion of monoamines in the median eminence of the hypothalamus.
Neuroendocrinol. 3, 177

Marshall, F.H.A. und E.T. Halnan (1917):
On the postoestrus changes occurring in the generative organs and mammary glands of the non-pregnant dog.
Proc. roy. Soc. 89, 546

Mayer, G. und M. Klein (1960):
Histology and cytology of the mammary gland.
In: Kon und Cowie: Milk, the mammary gland and its secretion, chapt. 2
Academic Press, N.Y.

McCann, S.M. und H.M. Friedman (1960):
The effect of hypothalamic lesions on the secretion of luteotrophin.
Endocrinol. 67, 597

Meites, J. (1966):
Control of mammary growth and lactation.
In: Martini and Ganong (eds.)
Neuroendocrinol. Vol. I, chapt. 16
Academic Press N.Y. and Lond.

Meites, J., T.F. Hopkins and P.K. Talwalker (1963):
Induction of lactation in pregnant rabbits with prolactin, cortisol-acetate or both.
Endocrinol. 73, 261

Meites, J. und C.S. Nicoll (1966):
Adenohypophysis: Prolactin.
Ann. Rev. of Physiol. 28, 57

Meites, J. und C.W. Turner (1942):
Effects of estrone on lactogen content in pituitary and blood of male rabbits.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 49, 190

Meites, J. und C.W. Turner (1950):
In: Emmens, C.W. (ed.) "Hormone Assay", p. 237
Academic Press N.Y.

Minaguchi, H., J.A. Clemens und J. Meites (1968):
Changes in pituitary prolactin levels in rats from weaning to adulthood.
Endocrinol. 82, 555

Minaguchi, H. und J. Meites (1967):
Effects of suckling on hypothalamic LH-releasing factor and prolactin-inhibiting factor and on pituitary LH and prolactin.
Endocrinol. 80, 603

Mirsky, A.E. und H. Ris (1949):
Variable and constant components of chromosomes.
Nature (Lond.) 163, 666

Mishkinsky, J., Z.K. Lajtos und F.G. Sulman (1966):
Initiation of lactation by hypothalamic implantation of perphenazine.
Endocrinol. 78, 919

Mixner, J.P. und C.W. Turner (1942):
Influence of thyroxine upon mammary lobulo-alveolar growth.
Endocrinol. 31, 345

Mizuno, H., K. Iida und M. Naito (1955):
The role of prolactin in the mammary alveolus formation.
Endocrinol. Jap. 2, 163

Mizuno, H. und M. Naito (1956):
The effect of locally administered prolactin on the nucleic acid content of the mammary gland in the rabbit.
Endocrinol. Jap. 3, 227

Moon, R.C. (1962):
Influence of graded thyroxine levels on mammary gland growth.
Amer. J. Physiol. 203, 942

Moon, R.C., D.R. Griffith und C.W. Turner (1959):
Normal and experimental growth of rat mammary gland.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 101, 788

Moore, C.E. (1921):
On the physiological properties of the gonads as controllers of somatic and psychical characteristics.
IV. Gonad transplantation in the guinea-pig.
Z. exp. Zool. 33, 365

Munford, R.E. (1964):
A review of anatomical and biochemical changes in the mammary gland with particular reference to quantitative methods of assessing mammary development.
J. Dairy Sci. Abstr. 26, 293

Neill, J.D. (1972):
Sexual differences in the hypothalamic regulation of prolactin secretion.
Endocrinology 90, 1154

Nelson, W.O. (1936):
Endocrine control of the mammary gland.
Physiol. Rev. 16, 488

Nelson, W.O. (1937):
Studies on the physiology of lactation.
VI. The endocrine influences concerned in the development and function of the mammary gland in the guinea-pig.
Amer. J. Anat. 60, 341

Nelson, W.O. (1950):
Interrelations of steroids and hypophyseal hormones and their effects on the mammary glands.
In: Méchanisme physiologique de la secrétion lactée.
Col. Int. du C.N.R.S. (Strasbourg) p. 19

Nelson, W.O. (1952):
Hypophyseal and ovarian hormones in the regulation of the mammary glands.
Ciba. Found. 4, 402

Neumann, F. und H. Hamada (1963):
Intrauterine Feminisierung männlicher Rattenfoeten durch das stark gestagen wirksame 6-chlor-delta6-1,2 alpha-methylen-17 alpha-hydroxy-progesteron-azetat.
10. Symp. Gesellsch. Endocr., Wien (7.-9. März 1963)

Neumann, F., U.-D. Richter und P. Günzel (1965):
Wirkungen von Antiandrogenen.
Zentralbl. Veterinaermed. 12, 171

Neumann, F., W. Elger und M. Kramer (1966):
The development of a vagina in male rats by inhibiting the androgen receptors with an antiandrogen during the critical phase of organogenesis.
Endocrinology 78, 628

Neumann, F. und W. Elger (1966):
The effect of the antiandrogen 1,2-alpha-methylene-6-chloro-delta 4,6-pregnadiene-17alpha-ol-3,20-dione-17alpha-acetate (cyproterone acetate) on the development of the mammary gland of male foetal rats.
J. Endocrinol. 36, 347

Neumann, F. und W. Elger (1967):
Steroidal stimulation of mammary glands in prenatally feminized male rats.
Europ. J. of Pharmacology 1, 120

Neumann, F., J.D. Hahn und M. Kramer (1967):
Hemmung von testosteronabhängigen Differenzierungsvorgängen der männlichen Ratten nach der Geburt.
Acta endocrinol. (Kbh.) 54, 227

Neumann, F., W. Elger und R. v.Berswordt-Wallrabe (1967):
Intersexualität männlicher Feten und Hemmung androgenabhängiger Funktionen bei erwachsenen Tieren durch Testosteronblocker.
Dtsch. med. Wschr. 92, 360

Neumann, F., W. Elger und H. Steinbeck (1970):
Antiandrogen and reproductive development.
Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B 259, 179

Neumann, F., W. Elger und H. Steinbeck (1971):
Die Bedeutung der Androgene für die "Prägung des Gehirns".
J. of Neuro-Visceral Relations, Suppl. X, p. 296

Nicoll, C.S. und J. Meites (1962):
Estrogen stimulation of prolactin production by rat adenohypophysis in vitro.
Endocrinol. 70, 272

Nicoll, C.S. und J. Meites (1964):
Prolactin secretion in vitro: Effects of gonadal and adrenal cortical steroids.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 117, 579

Nikitovtch-Winer, M.B. (1965):
Effect of hypophyseal stalk transection on luteotrophic hormone secretion in the rat.
Endocrinol. 77, 658

Nikitovitch-Winer, M.B. und J.W. Everett (1958):
Comparative study of luteotrophin secretion by hypophyseal autotransplantats in the rat. Effect of the site and stages of the oestrus.
Endocrinol. 62, 522

Pasteels, J.L. (1971):
Morphology of prolactin secretion.
In: Ciba Found. Sympos. on lactogenic hormones
Ed: Wolstenholme, I. p. 241 Lond. Livingstone

Peterson, W.G., C.B. Knodt, T.M. Ludwick und B.S. Pomeroy (1944):
Mammary development in the thyroprived bovine by stilbestrol and thyroprotein administration.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 57, 332

Purves, H.D. (1966):
Cytology of the adenohypophysis.
In: Harris und Donovan (eds.) "The pituitary gland", Vol. I, p. 147
Lond. Butterworths

Raynaud, A. (1942):
Modifikation expérimentale de la différenciation sexuelle des embryons de souris, par action des hormones androgénes et oestrogénes.
Acta sci. et Ind., Nos. 925 et 926

Raynaud, A. (1947):
Effect de injections d'hormones sexuelles a la souris gravi sur le dévelopment des ébauches de la glande mammaire des embryons. I. Action des substances androgenes.
Ann. Endocrinol. (Paris) 8, 248

Raynaud, A. (1947):
Effect de injections d'hormones sexuelles a la souris gravide sur le developpement des ebauches de la glande mammaire des embryons. II. Action des fortes doses de substances oestrogenes.
Ann. Endocrinol. (Paris) 8, 318

Raynaud, A. (1947):
Observations sur le developpement normal des ébauches de la glande mammaire des foetus males et femelles de souris.
Ann. Endocrinol. (Paris) 8, 349

Raynaud, A. (1949):
Nouvelles observations sur l'appareil mammaire des foetus de souris provenant de meres ayand recu des injections de testosterone pendant la gestation.
Ann. Endocrinol. (Paris) 10, 54

Raynaud, A. (1950):
Recherches expérimentales sur le développement de l'appareil génital et le fonctionnement des glandes endocrines des foetus de souris et de mulot.
Arch. Anat. micr. Morph. exp. 39, 518

Raynaud, A. (1961):
Morphogenesis of the mammary gland.
In: Kon und Cowie (eds.) "The mammary gland and its secretion", p. 3
Academic Press N.Y.-Lond.

Raynaud, A. und M. Frilley (1947):
Effects sur le développement du tractus génital des embryons de souris, de la destruction de ébauches de leurs glandes génitales, par une irradiation au moyen des rayons X, à l'age de treize jours.
C. R. Soc. de Biol. (Paris) 141, 1134

Raynaud, A. und M. Frilley (1949):
Le développement embryonaire de la glande mammaire de la souris aprés destruction au moyen des rayons X des glandes génitales de l'embryon.
Bull. Soc. Zool. France 74, 156

Raynaud, A. und J. Raynaud (1953):
Les principales étapes de la séparation, d'avec l'epiderme, des ébauches mammaires de foetus mâles de souris; recherches sur les processus de la rupture de la tige du bourgeon mammaire.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 147, 1872

Raynaud, A. und J. Raynaud (1953):
Les processus de la destruction de la deuxieme paire inguinale d'ebauches mammaires de foetus mâles de souris.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 147, 1962

Raynaud, A. und J. Raynaud (1956):
La production expérimentale de malformetions mammaires chez les foetus de souris, par l'action des hormones sexuelles.
Premiere partie Ann. Inst. Pasteur 90, 39, 187

Raynaud, A. und J. Raynaud (1956):
Les stades foetaux successifs de l'inhibition du développement des ébauches mammaires de la souris, sous l'effect d'une hormone oestrogéne.
C. R. Acad. Sci. (Paris) 243, 424

Ramirez, V.D. und S.M. McCann (1964):
Induction of prolactin secretion by implants of oestrogen into the hypothalamo-hypophyseal region of female rats.
Endocrinol. 75, 206

Ratner, A. und J. Meites (1964):
Removal of prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus by oestrogen, reserpine, or suckling.
Fed. Proc. 23, 110

Ratner, A. und J. Meites (1964):
Depletion of prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus by estradiol or suckling stimulus.
Endocrinol. 75, 377

Ratner, A., P.K. Talwalker und J. Meites (1963):
Effect of estrogen administration in vivo on prolactin release by rat pituitary in vitro.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 112, 12

Reece, R.P., J.W. Bartlett, I.L. Hathaway und H.P. Davis (1940):
Hormonal inhibition of lactation.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 43, 183

Reece, R.P. und J.A. Bivins (1942):
Progesterone effect on pituitary lactogen and on mammary glands of ovariectomized rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 49, 582

Reece, R.P. und J.H. Leathem (1945):
Growth of mammary glands of hypophysectomized rats following estrogen and lactogen administration.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 59, 122

Reece, R.P. und S.L. Leonhard (1939):
Further evidence for a mammogenic factor in the rat hypophysis.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 42, 200

Reece, R.P. und S.L. Leonhard (1941):
Effect of oestrogens, gonadotrophins and growth hormone on mammary glands of hypophysectomized rats.
Endocrinol. 29, 297

Reece, R.P. und S.L. Leonhard (1942):
Lobulo-alveolar growth of mammary glands of hypophysectomized female rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 49, 600

Reece, R.P., C.W. Turner und R.T. Hill (1936):
Mammary gland development in the hypophysectomized albino rat.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 34, 204

Rennels, E.G., D.M. Anigstein und L. Anigstein (1961):
In: Texas Rept. Biol. Med. 19, 159

Richardson, F.L. (1951):
Further studies on the mammary gland development in male mice at nine weeks of age.
Anat. Rec. 111, 669

Richardson, F.L. (1953):
The mammary gland development in normal and castrate male mice at nine weeks of age.
Anat. Rec. 117, 449

Richardson, F.L. und A.M. Cloudman (1947):
The mammary gland development in male mice at nine weeks of age.
Anat. Rec. 97, 233

Riddle, O. und R.W. Bates (1939):
The preparation, assay and actions of lactogenic hormone.
In: Allen, E. (ed.) "Sex and internal secretions"
Baltimore, Williams and Wilkins Co.

Rieser, U., U. Schulz und F. Neumann (1970):
Ursachen der geschlechtsunterschiedlichen Milchdrüsengewebsentwicklung bei Ratten.
Experientia (Basel) 26, 1148

Robboy, S.J. und R.H. Kahn (1966):
Zone electrophoresis and prolactin activity of rat adenohypophysis cultivated in vitro.
Endocrinol. 78, 440

Rothchild, I. (1960):
The corpus luteum pituitary relationship: The association between the cause of luteotrophin secretion and the cause of follicular quiescence during lactation; the basis for a tentative theory of the corpus luteum pituitary relationship in the rat.
Endocrinol. 67, 9

Rothchild, I. (1965):
Interrelations between progesterone and the ovary, pituitary and central nervous system in the control of ovulation and regulation of progesterone secretion.
Vitam. and Horm. 23, 209

Rothchild, I. und R. Dickey (1960):
The corpus luteum relationship: A study of the compensatory hypertrophy of the ovary during pseudopregnancy and lactation in the rat.
Endocrinol. 67, 42

Sand, K. (1919):
Experiments on the internal secretion of the sexual glands especially on experimental hermaphroditism.
J. Physiol. (Lond.) 53, 257

Sar, M. und J. Meites (1967):
Changes in pituitary prolactin release and hypothalamic PIF-content during the oestrus cycle of rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 125, 1018

Sar, M. und J. Meites (1968):
Effects of progesterone, testosterone and cortisol on hypothalamic PIF and pituitary prolactin content.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 127, 426

Sawyer, C.H., C.K. Hahn, J. Hilliard, H.M. Radford und S. Kanematsu (1963):
Further evidence for the identity of hypothalamic areas controlling ovulation and lactation in the rabbit.
Endocrinol. 73, 338

Schmidt, H. (1897):
Morph. Arb. 7, 157

Schneider, W.G. (1945):
Phosphorus compounds in animal tissues.
I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid.
J. Biol. Chem. 161, 293

Schultze, O. (1892):
Anat. Anz. 7, 265

Sinha, Y.N. und H.A. Tucker (1966):
Mammary gland growth of rats between ten and hundred days of age.
Amer. J. Physiol. 210, 601

Sinha, Y.N. und H.A. Tucker (1969):
J. Dairy sci. 52, 507

Sinha, Y.N. und H.A. Tucker (1969):
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 131, 908

Smelser, G.K. (1933):
The response of guinea-pig mammary glands to injected sex hormones and ovarian grafts and its bearing on the problem on sex hormone antagonism.
Physiol. Zool. 6, 396

Smith, T.C. und B. Richterich (1956):
Progesterone and mammary gland growth in guinea-pigs.
Anat. Rec. 125, 579

Smith, T.C. und B. Richterich (1958):
Synergism of estrogen and progesterone on mammary gland growth in guinea-pigs.
Endocrinol. 63, 89

Smithcors, J.F. und S.L. Leonhard (1942):
Relation of thyroid to mammary gland structure in the rat with special reference to the male.
Endocrinol. 31, 454

Steinach, E. (1912):
Willkürliche Umwandlung von Säugetiermännchen in Tiere mit ausgeprägt weiblichen Geschlechtscharakteren und weiblicher Psyche.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 144, 71

Steinach, E. (1916):
Pubertätsdrüsen und Zwitterbildung.
Arch. Entwickl.-Mech. Org. 42, 307

Steinbeck, H. (1969):
Die Wirkung der verschiedenen Gestagene auf Morphologie und Funktion der Milchdrüse.
In: Junkmann, K. (ed.) "Die Gestagene", Teil II: Handbuch der experimentellen Pharmakologie XXII/2, Berlin - Heidelberg - New York: Springer

Steinbeck, H., F. Neumann und W. Elger (1970):
Effect of an antiandrogen on the differentiation of the internal genital organs in dogs.
J. Reprod. Fertil. 23, 229

Sulman, F.G., M. Ben-David, A. Danon, S. Dikstein, N. Khazan, J. Mishkinsky und V. Zor (1963/64):
Studies on hypothalamic lactation. Investigation into the mechanism of lactation and its augmentation by hypothalamic stimulation.
In: Research, report 1963/64, the Hebrew University of Jerusalem, Israel

Talwalker, P.K., J. Meites und H. Mizuno (1964):
Mammary tumor induction by estrogen or anterior pituitary hormones in ovariectomized rats, given 7,12-dimethyl-1,2-benzanthracene.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 116, 531

Tindal, J.S. und A. Yokohama (1962):
Assay of oxytocin by the milk ejection response in the anestesized lactating guinea-pig.
Endocrinol. 71, 196

Traurig, H.H. und C.F. Morgam (1964):
The effect of ovarian and hypophyseal hormones on mammary gland epithelial cell proliferation.
Anat. Rec. 150, 423

Tucker, H.A., M.J. Paape und Y.N. Sinha (1967):
Ovariectomy and suckling intensity effects on mammary nucleic acid, prolactin and ACTH.
Amer. J. Physiol. 213, 262

Tullner, W.W. (1963):
In: J. Ntl. Cancer Inst. Monograph. 12, 211

Turner, C.W. und E. Allen (1933):
The normal and experiment development of the mammary gland of the monkey (macasus rhesus).
Anat. Rec. 55, 80

Turner, C.W. und E.T. Gomez (1933):
The normal development of the mammary gland of the male and female albino mouse.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 182

Turner, C.W. und E.T. Gomez (1933):
The normal development of the male and female guinea-pig.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 194

Turner, C.W. und E.T. Gomez (1934):
The experimental development of the mammary gland. I. The male and female albino mouse. II. The male and female guinea-pig.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 206

Turner, C.W. und E.T. Gomez (1934):
The normal and experimental development of the mammary gland. III. The male and female dog.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 207

Turner, C.W. und E.T. Gomez (1936):
The development of the mammary glands of the goat.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 240

Turner, C.W. und E.T. Gomez (1936):
The effect of ovariectomy upon lactation in the albino rat.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 370

Turner, C.W. und W.R. DeMoss (1934):
The normal and experimental development of the mammary gland. I. The male and female domestic cat.
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 207

Webb, J.M. und H.B. Levy (1955):
A sensitive method for the determination of desoxyribonucleic acid in tissues and microorganisms.
J. Biol. Chem. 213, 107

White, A., R.W. Bonsness und C.N.H. Long (1942):
Prolactin.
J. Biol. Chem. 143, 447

Wolthuis, O.L. (1963):
An assay of prolactin based on a direct effect of this hormone on cells of the corpus luteum.
Acta endocrinol. (Kbh.) 42, 364

Wolthuis, O.L. (1963):
A new prolactin assay method: Some experiments which provide arguments for its specifity.
Acta endocrinol. 42, 380

Wolthuis, O.L. (1963):
The effect of sex steroids on the prolactin content of the hypophysis and serum in rats.
Acta endocrinol. (Kbh.) 43, 137

Wolthuis, O.L. und S.E. de Jongh (1963):
The prolactin production and release of a pituitary graft and of the hypophysis in situ.
Acta endocrinol. (Kbh.) 43, 271

Woodman, H.E. und J. Hammond (1923):
The composition of secretions obtained from the udders of heifers during pregnancy.
J. Agr. Sci. 13, 180

Yamamotu, H. und C.W. Turner (1956):
Experimental mammary gland growth in rabbits by oestrogen and progesterone.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 92, 130

Zeilmaker, G.H. (1965):
Normal and delayed pseudopregnancy in the rat.
Acta endocrinol. (Kbh.) 49, 558

VIII. LEBENSLAUF

Ich wurde am 11. März 1949 als erstes Kind des Polizeibeamten Willi Düsterberg und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Bubolz, in Berlin-Schöneberg geboren.

Von 1955 bis 1961 besuchte ich die Grundschule in Berlin-Schöneberg.

Zwei Jahre besuchte ich dann die Realschule in Berlin-Schöneberg.

Von 1963 bis zur Reifeprüfung im Februar 1968 besuchte ich das Robert-Koch-Gymnasium in Berlin-Kreuzberg.

Seit 1968 studiere ich Biologie, Hauptfach Zoologie, an der Freien Universität Berlin. Die Prüfung zum Hauptdiplom habe ich im August 1972 bestanden.